

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



BIOCOMPATIBILIDADE DO INSERTO INEYE® EM CÃES

CATARINA DINIS DA FONSECA MARTINS MARQUES

ORIENTADORA:

Doutora Esmeralda Sofia da Costa  
Delgado

TUTOR:

Dr. Diogo Nuno Alves Costa Magno



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



BIOCOMPATIBILIDADE DO INSERTO INEYE® EM CÃES

CATARINA DINIS DA FONSECA MARTINS MARQUES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Graça Maria Alexandre Pires  
Lopes de Melo

VOGAIS:

Doutora Esmeralda Sofia da Costa  
Delgado  
Doutor Frederico Nuno Castanheira  
Aires da Silva

ORIENTADORA:

Doutora Esmeralda Sofia da Costa  
Delgado

TUTOR:

Dr. Diogo Nuno Alves Costa Magno

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: Catarina Dinis da Fonseca Martins Marques

Título da Tese ou Dissertação: Biocompatibilidade do inserto ineye® em cães

Ano de conclusão: 27/07/2020

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

☒ Clínica

☐ Produção Animal e Segurança Alimentar

☐ Morfologia e Função

☐ Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

1. ☒ Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
2. ☐ Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de ☐ 6 meses, ☐ 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três, retirando as que não interessam):

1. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 27 de Julho de 2020

Assinatura:





## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, à professora Esmeralda, que desde o primeiro dia, no terceiro ano da faculdade, me apoiou, motivou e ensinou grande parte do que sei hoje de Oftalmologia. Obrigada pela paciência e tranquilidade. Obrigada pelas oportunidades e pela confiança. E, por fim, obrigada pela nossa aventura em Dublin que tanto me motivou e deixou orgulhosa por ser minha orientadora.

A toda a equipa do ineye®, Marcos, Paula e Teresa que tanto me motivaram neste estudo. Sem vocês, isto não teria sido possível. Obrigada por aceitarem as minhas sugestões e pela confiança. Obrigada também à professora Berta que esteve sempre presente neste processo.

Aos meus pais, que tanto investiram em mim e na minha educação, sorriram e choraram ao meu lado. Obrigada pelo amor incondicional e pelo exemplo de vida que sempre serão.

À Patrícia, pela paciência gigante para os meus dramas e para os meus medos e ansiedades. Obrigada pela sinceridade que sempre tivemos e pelos dias maus que tornaste bons. Sem ti, não tinha sido igual.

Aos meus queridos amigos, Inês, Leites, André e Rita que me fizeram sentir incluída. Os últimos meses foram os melhores, mesmo em época de exames. São os verdadeiros que espero ter sempre comigo. Obrigada também à Julieta, à Kika e à Carolina que são como família e sempre foram, desde o início, uma ajuda preciosa no meu percurso. Obrigada ao David pela paciência e toda a ajuda tecnológica.

Às “Jacintas”, Sara, Noca, Mags, Chica, Rita e Nocas Surf pelas melhores férias que poderia desejar! Obrigada por me fazerem sentir que posso ser eu mesma e por acreditarem em mim desde o início.

À Patisu, pelas gargalhadas, pelas sessões, pelas saídas, pelos passeios noturnos à toa, por seres tu! Sempre presente para me ajudar a ultrapassar qualquer coisa.

Um gigantesco obrigada à VETuna por manterem a música em mim, pelos convívios e por me ensinarem realmente o que significa ter espírito académico.

A toda a equipa do Hospital Veterinário de São Bento, especialmente aos Doutores Henrique Armés e Patricia Gayán pelas oportunidades e por todos os ensinamentos que foram os meus primeiros passos na área da medicina veterinária.

Ao Hospital Veterinário do Restelo, a todos os médicos, enfermeiros e auxiliares que me receberam e ensinaram. Obrigada pela confiança. Foi um gosto enorme estagiar convosco. Um especial obrigado ao Doutor Diogo Magno e Doutor Francisco Brandão pela motivação diária que era dada. Por fim, a todos os meus colegas estagiários que tornaram os dias no Restelo mais animados.

À Lara, que em Cabo Verde me ensinou muito. Obrigada pela paciência e confiança. Obrigada por me mostrares que é possível ser um bom veterinário, mesmo sem grandes meios. Obrigada pela experiência que guardo comigo como uma das melhores da minha vida.

À minha família, avó Tina, avó Alice e avô Zé pelo apoio diário e constante no meu percurso. Por todas as “velinhas” acesas por mim. Por todas as chamadas de boa sorte e pelos momentos que desejava que fossem eternos. Um grande obrigada também aos meus primos Rita e Diogo e à minha madrinha Milucha.

Por fim, ao meu avô materno, o grande Doutor José Pestana Dinis da Fonseca, que digo com tanto orgulho. Obrigada por fazer crescer o gosto em mim pela Saúde e Medicina. As saudades são muitas e sei que adoraria estar presente. Pelo exemplo de vida que sempre foi e muito mais, a si lhe dedico a minha tese.

## Resumo

### BIOCOMPATIBILIDADE DO INSERTO INEYE® EM CÃES

A administração tópica de fármacos é a via mais usada para o tratamento de doenças oculares. Porém, esta via requer uma frequência elevada de administrações ao longo do dia, devido à baixa biodisponibilidade do fármaco no local alvo – o bulbo ocular, tornando-se por isso pouco prático e dificultando a adesão à terapêutica pelos detentores dos animais. Por isso, são necessárias novas formas farmacêuticas para administração tópica que possibilitem uma absorção continua dos fármacos. Com este propósito, foi desenvolvido, por uma equipa de investigadores da Universidade de Coimbra, um inserto ocular designado de ineye®. Este inserto, de base polimérica, tem demonstrado elevada biocompatibilidade *in vitro*, isto em cultura de células de epitélio da córnea.

Este estudo propôs-se a avaliar a biocompatibilidade nas vertentes da biofuncionalidade e da tolerância do inserto ocular ineye® *in vivo*. Para tal, foram selecionados 27 cães mesocefálicos, todos com exames oftalmológicos normais. Os insertos oculares testados, com um tamanho máximo de 4 mm e um peso máximo de 40 mg, podiam ter formato esférico (n=14), hemisférico (n=3), oblongo (n=3) ou formato feijão (n=7). Antes da sua aplicação, foram esterilizados e, em alguns casos, o inserto foi hidratado ou revestido por ácido hialurónico. Os insertos foram colocados no saco conjuntival superior (n=6) ou inferior (n=21) e foram programados exames oftálmicos para as 6 horas, 24 horas e diariamente, até 7 dias pós colocação, para detetar sinais de desconforto ou inflamação ocular (hiperémia conjuntival, congestão, quemose, lesões da córnea, secreções oculares ou prurido).

Os resultados demonstraram que em 11,1% (3/27) dos casos, os insertos foram expulsos em poucos minutos após a colocação, em 59,3% (16/27) dos casos num período de tempo inferior a 6 horas e em 25,9 % (7/27) dos casos o inserto permaneceu mais de 6 horas, mas menos de 24 horas e num caso (3,6%) permaneceu mais de 48, mas menos de 72 horas. Em nenhum dos casos foram observados sinais de inflamação ou desconforto.

Pode então concluir-se que nas condições experimentais utilizadas, a biofuncionalidade do ineye® foi baixa, o que se poderá ser explicado pela presença da membrana nictitante nos cães e pelas diferenças morfológicas entre as raças de cães incluídas neste estudo. No entanto e devido às diferenças anatómicas existentes, este resultado não invalida que o inserto possa ser biofuncional na espécie humana. Não se observaram quaisquer efeitos adversos decorrentes da presença do inserto, o que demonstra uma boa tolerância da espécie canina ao ineye®.

**Palavras-chave:** biocompatibilidade, biofuncionalidade, tolerância, oftalmologia, inserto, cão

## **Abstract**

### **BIOCOMPATIBILITY OF THE INEYE® INSERT IN DOGS**

Topical administrations are the preferred administration route for the treatment of ocular diseases. However, this route requires applications several times a day, due to the drug's low bioavailability at the target site of the eye, which sometimes becomes unpractical. Therefore, new forms of topical ocular administration of drugs are needed to enable continuous therapeutic delivery. For this purpose, an eye insert designated by ineye® is being developed by a research team at Coimbra University. This polymer-based insert has been previously tested *in vitro* in cell cultures of corneal epithelium showing high biocompatibility.

This study aimed to evaluate the biocompatibility and tolerance of the ineye® insert *in vivo*, through the evaluation of its biofunctionality and tolerance. 27 mesocephalic dogs with normal ophthalmologic exams were included in the experiment. The tested ocular inserts had a maximum size of 4mm and a maximum weight of 40 mg, being spherical (n=14), hemispherical (n=3), oblong (n=3) or bean shaped (n=7). In addition, they were sterilized before application and, in some cases, the insert was hydrated or covered with hyaluronic acid. The inserts were placed on the upper (n=6) or lower (n=21) conjunctival sac and ophthalmic examinations were scheduled post 6 hours, post 24 hours and daily until 7 days post placement. These examinations aimed to recognize signs of discomfort or inflammation (such as conjunctival hyperemia, congestion, chemosis, corneal lesions, ocular discharges or pruritus),.

The results showed that in 11,1% (3/27) of the cases, the inserts were expelled few minutes after their placement. In 59,3% (16/27) of the cases, this happened before 6 hours and in 25,9% (7/27) of the cases they stayed over 6 hours, but less than 24 hours. In only one case (3,6%), the insert remained for more than 48 hours, but less than 72 hours. There were no signs of inflammation or discomfort due to their presence.

This study aimed to evaluate biofunctionality and tolerance of the ineye® insert in dogs. Under these experimental conditions, biofunctionality was low, which could be due to the presence of the nictitating membrane and to morphologic differences between breeds. Due to the anatomical differences, this does not mean that the insert can't be biofunctional in humans. There were no clinical signs associated with the presence of the insert, presenting a good tolerance in dogs.

**Keywords: biocompatibility, biofunctionality, tolerance, ophthalmology, insert, dog**

<b>Índice Geral</b>	
<b>Agradecimentos .....</b>	<b>iii</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>v</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>vi</b>
<b>Índice Geral .....</b>	<b>vii</b>
<b>Lista de Figuras .....</b>	<b>x</b>
<b>Lista de Tabelas.....</b>	<b>x</b>
<b>Lista de Gráficos .....</b>	<b>xi</b>
<b>Lista de Abreviaturas .....</b>	<b>xi</b>
<b>Lista de Símbolos .....</b>	<b>xi</b>
<b>PARTE I – Resumo das atividades do estágio .....</b>	<b>1</b>
1. Estágio Curricular .....	1
2. Estágio Extracurricular: Associação Bons Amigos, Cabo Verde.....	3
<b>PARTE II - Revisão Bibliográfica.....</b>	<b>4</b>
1. Anatomia e barreiras oculares.....	4
1.1. Barreiras fisiológicas naturais.....	5
1.1.1. Filme lacrimal.....	5
1.1.2. Córnea .....	5
1.2. Conjuntiva.....	6
1.3. Barreiras Hemato-oculares.....	6
1.3.1. Barreira Hemato-aquosa (BHA).....	6
1.3.2. Barreira Hemato-retiniana (BHR).....	7
2. Vias de administração ocular de fármacos.....	7
2.1. Administração tópica .....	8
2.1.1. Colírios.....	8
2.1.2. Preparações oftálmicas semissólidas.....	9
2.1.2.1. Géis.....	9
2.1.2.2. Pomadas.....	9

2.2.	Administração sistémica .....	9
2.3.	Administração local.....	10
2.3.1.	Administração periocular .....	10
2.3.2.	Administração intraocular .....	10
2.4.	Dispositivos de distribuição de fármacos (DDFs).....	11
2.4.1.	Insertos .....	11
2.4.2.	Implantes .....	12
3.	Estudos relativos a DDFs .....	13
3.1.	BODI® .....	13
3.2.	Implante Supracoroidal em equinos .....	14
3.3.	Gelfoam® .....	14
3.4.	Lentes de contacto Night & Day® .....	15
3.5.	Implantes Episclerais em cães .....	15
3.6.	Lente intraocular com dexametasona.....	15
4.	ineye® .....	16
4.1.	Composição.....	17
4.2.	Cinética .....	17
5.	Mucoadesão .....	18
5.1.	Ácido Hialurónico (AH) .....	18
5.2.	Carbopol® .....	18
<b>PARTE III – Biocompatibilidade do inserto ineye® em cães.....</b>		<b>20</b>
1.	Introdução.....	20
2.	Objetivos.....	20
3.	Materiais e Métodos .....	21
3.1.	Amostra populacional em estudo .....	21
3.1.1.	Critérios de inclusão na amostra .....	21
3.2.	Insertos oculares testados.....	22
3.3.	Grupos de animais.....	22
3.4.	Metodologia .....	24

3.5.	Análise Estatística .....	26
4.	Resultados.....	27
4.1.	Amostra em estudo.....	27
4.2.	Insertos oculares testados.....	27
4.3.	Local de colocação do inserto .....	28
4.4.	Biofuncionalidade .....	28
4.5.	Outras espécies.....	30
4.6.	Tolerância .....	31
4.7.	Caracterização dos insertos .....	32
4.7.1.	Formato.....	32
4.7.2.	Hidratação e revestimento com mucoadesivo.....	33
4.7.3.	Local de colocação do inserto .....	34
4.7.4.	Relação entre o porte dos animais e o tempo de permanência do inserto	35
4.8.	Análise de correlação .....	36
4.9.	Regressão .....	36
4.9.1.	Teste de Hipóteses.....	36
4.9.1.1.	Grupos de cães.....	37
4.9.1.2.	Formato.....	38
4.9.1.3.	Hidratação.....	38
4.9.1.4.	Revestimento com mucoadesivo.....	38
4.9.1.5.	Local de colocação inicial do inserto .....	38
5.	Discussão .....	39
6.	Conclusão.....	42
7.	Referências Bibliográficas .....	43
8.	Anexos.....	48
	Anexo 1 - Declaração de consentimento informado.....	48
	Anexo 2 - Protocolo .....	49
	Anexo 3 - Abstract ESVO Meeting 2019 .....	51

## Lista de Figuras

Figura 1 – Anatomia do Bulbo ocular e suas Barreiras Anatômicas .....	4
Figura 2 - Vias de Administração. Via tópica (1); Via Retrobulbar (2); Via Sistêmica (3); Via Intraocular (4); Via Subconjuntival (5); Dispositivos de Distribuição de Fármacos (6) .....	7
Figura 3 - Inserto ocular ineye® (Imagem cedida por Marcos Mariz) .....	17
Figura 4 - Formatos ineye®. Esférico (1); Hemisférico (2); Oblongo (3); Formato Feijão (4) .....	22
Figura 5 - Colocação do inserto .....	25
Figura 6 - Colocação do inserto no fundo de saco conjuntival inferior, sendo possível visualizar a membrana nictitante cujo movimento pode ter propiciado a expulsão do inserto .....	26
Figura 7 - Aspeto do inserto partido. ....	29
Figura 8 - Colocação de inserto em gato com expulsão imediata.....	30
Figura 9 - Visualização de inserto no fundo de saco conjuntival de um equino.....	31
Figura 10 - Visualização de muco esbranquiçado no canto medial do olho num caso em que se procedeu à colocação de um inserto revestido com substância mucoadesiva....	32
Figura 11 - Visualização de aumento de volume por debaixo da pálpebra inferior correspondendo à localização do inserto.....	34
Figura 12 - Localização de inserto no fundo de saco conjuntival inferior num cão de porte pequeno. ....	35

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens das vias de administração ocular. ....	12
Tabela 2 - Amostra em estudo .....	23
Tabela 3 - Distribuição de cães quanto ao tamanho. ....	27
Tabela 4 - Formato do inserto ocular testado.....	27
Tabela 5 - Distribuição dos insertos hidratados. ....	28
Tabela 6 - Distribuição dos insertos revestido pelo mucoadesivo.....	28
Tabela 7 - Distribuição dos insertos de acordo com o saco conjuntival de colocação. ....	28
Tabela 8 - Tempo decorrido até à expulsão (h) do inserto.....	29
Tabela 9 - Relação entre o tempo até à expulsão e o formato do inserto.....	33
Tabela 10 - Relação entre o tempo até à expulsão e a hidratação e revestimento com mucoadesivo. ....	33



Tabela 11 - Relação entre o tempo até à expulsão e o local de colocação do inserto.	34
Tabela 12 - Relação entre o tempo até à expulsão e o grupo de cães.	35
Tabela 13 - Correlação entre variáveis em estudo.	36
Tabela 14 - Testes de normalidade.	37
Tabela 15 - Testes não paramétricos: Biofuncionalidade.	39

## Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Biofuncionalidade	30
-------------------------------	----

## Lista de Abreviaturas

AH – Ácido hialurónico  
 BODI - *Bioadhesive Ophthalmic Drug Insert*  
 BHA - Barreira hemato-aquosa  
 BHO - Barreira hemato-ocular  
 BHR – Barreira hemato-retiniana  
 DDF – Dispositivo de distribuição de fármacos  
 ERU – Uveíte recorrente dos equinos  
 FMV – Faculdade de Medicina Veterinária  
 KCS – Queratoconjuntivite seca  
 PEG - Polietilenoglicol  
 PCL – Policaprolactona  
 ULisboa – Universidade de Lisboa

## Lista de Símbolos

® - marca registada  
 mg – miligrama  
 mm – milímetro  
 p – nível de significância  
 % - percentagem

## COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS

---

Os resultados preliminares deste estudo foram apresentados, sob a forma de comunicação oral, no Congresso da Sociedade Europeia de Oftalmologia Veterinária (ESVO – *European Society of Veterinary Ophthalmology*), que se realizou de dia 3 a dia 6 de Outubro de 2019, em Dublin, Irlanda. O respetivo *abstract* foi publicado na versão *on-line* da revista *Veterinary Ophthalmology*.

C. Marques<sup>1</sup>, T. Cernadas<sup>2,3</sup>, P. Ferreira<sup>2,3</sup>, B. S. Braz<sup>1</sup>, M. Mariz<sup>2,3</sup>, E. Delgado<sup>1</sup>,  
**Biocompatibility and tolerance of the ineye® insert in companion animals.**

Abstracts: Annual Scientific Meeting of the European Society of Veterinary Ophthalmologists, Dublin, Ireland, Oct 3-6, 2019 (Anexo 3). First published: 15 November 2019 <https://doi.org/10.1111/vop.12720> E81-E89

## **PARTE I – Resumo das atividades do estágio**

### **1. Estágio Curricular**

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa), o meu estágio curricular decorreu no Hospital Veterinário do Restelo (HVR), desde o início de Setembro de 2019 até final de Fevereiro de 2020, durante 26 semanas. No HVR o estágio consiste em 10 rotações de 2 semanas cada. Nas restantes semanas, é-nos dada a opção de escolha para as áreas de maior interesse. Em cada uma das rotações é escolhido um médico da área para ser acompanhado pelo estagiário e o horário é igual para ambos. Os turnos foram das 9h-17h, 10h-18h, 14h-22h, 16h-00h ou das 8h-20h. As minhas semanas de estágio foram então distribuídas da seguinte forma: Cirurgia (6 semanas), Ortopedia e Neurologia (2 semanas), Medicina Interna/Geral (2 semanas), Animais exóticos (2 semanas), Internamento (2 semanas), Oftalmologia (4 semanas), Imagiologia (2 semanas), Oncologia (2 semanas), Laboratório (2 semanas) e Cardiologia (2 semanas). Para além disto, foram-nos dadas algumas formações ao longo destes meses, como “Formação em ECO FAST Abdominal e Torácica”, “Pensos e Feridas”, “Protocolos Anestésicos” e “Eletrocardiograma”.

Nas semanas de serviço em Cirurgia, auxiliei os enfermeiros na preparação pré-cirúrgica dos animais nas seguintes funções: colocação de cateter endovenoso, anestesia, entubação traqueal, tricotomia, assepsia e posicionamento do paciente na mesa. Em várias situações, no período intracirúrgico, fui ajudante de cirurgião e pude participar em cirurgias como orquiectomias, ovariectomias, laparotomias exploratórias, lobectomias, mastectomias, esplenectomias, nodulectomias, remoção de corpos estranhos, resolução de hérnias perianais, resolução de otomatomas e correção de atresia das narinas e palatoplastia em braquicéfalos. Para além disto, assisti e auxiliei em vários tratamentos orais como destartarizações e extrações dentárias e ainda rinoscopias e endoscopias para biópsia ou remoção de corpos estranhos.

Nas semanas de serviço de Ortopedia e Neurologia, para além de assistir a várias consultas de referência destas áreas, auxiliei na realização de Radiografias e Tomografias. Como ajudante de cirurgião, participei também em neurocirurgias em casos de hérnias discais e em cirurgias ortopédicas de osteossíntese, amputação de membros ou dígitos, ressecção da cabeça do fémur e resolução de roturas do ligamento cruzado.

Nas semanas de Medicina Interna/Geral, discuti vários casos clínicos apresentados em consulta e deparei-me com situações diversas de urgência, vacinações, desparasitações ou consultas de rotina. Acompanhei consultas de diversas áreas como de gastroenterologia,

nefrologia, dermatologia, endocrinologia, entre outros. Para além da ajuda na contenção, recolhi a história clínica e realizei exames físicos.

Nas semanas de Animais Exóticos, assisti a várias consultas de pequenos mamíferos (coelhos, furões, porquinhos-da-índia, entre outros), répteis e aves. Auxiliei também na recolha de amostras de sangue e ainda na imagem de dentes e castrações.

Nas semanas no serviço de Internamento, os turnos podiam ser de 12 horas (das 8h às 20h ou das 20h às 8h). No início de cada turno acompanhei a passagem de casos dos animais internados, onde estes eram discutidos entre médicos. Durante os turnos, realizei vários exames físicos, colheitas de sangue e análises dos mesmos. Coloquei cateteres endovenosos e auxiliei na preparação e administração das medicações.

Nas semanas no serviço de Oftalmologia, acompanhei várias consultas nas quais realizei o exame oftalmológico completo que me permitiu identificar várias alterações oculares e palpebrais. Discuti diagnósticos diferenciais e terapêuticos para as mesmas. Ainda em consulta assisti ao desbridamento de várias úlceras indolentes com o recurso à ponta de diamante e a zaragatoas. Para além disto, assisti a cirurgias como a resolução de cataratas pela técnica de facoemulsificação, queratectomias, queratotomias, colocação de membranas amnióticas, *flaps* conjuntivas, transposições córneo-conjuntivais, remoção de nódulos palpebrais, recolocação do prolapso da glândula da membrana nictitante e enucleações.

Nas semanas de Imagiologia, auxiliei principalmente na realização de ecografias abdominais. Os casos clínicos referenciados foram revistos, discutidos e interpretados. Para além disto, acompanhei e realizei a colheita de amostras por cistocentese e punção aspirativa por agulha fina (PAAF).

Nas semanas no serviço de Oncologia, para além de assistir às consultas de animais com doenças oncológicas, auxiliei na recolha de amostras, exame físico e anamnese e participei no debate com vista à avaliação do doente previamente à realização de quimioterapia. Para além disto, estudei vários protocolos quimioterápicos, assim como o cálculo das doses.

Nas duas semanas no laboratório do HVR, estudei várias técnicas de coloração e preparação das lâminas para posterior observação ao microscópio. Realizei e interpretei esfregaços de sangue de vários animais. Preparei biópsias para envio para laboratórios externos e outros testes que não eram possíveis de analisar no HVR. Para além disto, aprofundi os meus conhecimentos ao nível da observação de citologias de ouvido, pele, baço e fígado.

Por fim, nas semanas no serviço de Cardiologia, acompanhei diversas consultas e referências nesta área. Para além disto, assisti á realização de eletrocardiogramas e ecocardiografias. Cada caso era discutido e interpretado.

Este estágio reforçou a importância do bom funcionamento de um hospital veterinário, tanto a nível de comunicação entre colegas como também do trabalho em equipa em que cada membro tem a sua importância. Durante estes 6 meses enriqueci o meu nível de conhecimento médico e técnico, tanto a nível teórico como prático.

## **2. Estágio Extracurricular: Associação Bons Amigos, Cabo Verde**

De forma a complementar o meu estágio curricular e melhorar as minhas competências práticas, especialmente na área de cirurgia, realizei um estágio na Associação Bons Amigos, na cidade da Praia em Cabo Verde. O estágio teve a duração de 20 dias, sendo o horário das 9 às 17 horas em dias de semanas e das 9 às 12 horas ao sábado.

Na cidade da Praia na Ilha de Santiago, Cabo Verde, existe um excesso de animais errantes, ainda que muitos deles tenham um proprietário, representando um problema grave para animais e humanos. Por isso, o grande objetivo da associação é controlar, efetivamente, problemas higio-sanitários causados pela sobrepopulação de cães e gatos errantes, através da realização de campanhas de castração e desparasitação, da prevenção e tratamento de zoonoses e outras doenças, do fornecimento de informação e sensibilização da população e criação de “comunidades responsáveis”. Desta forma, a associação contribui para a melhoria da saúde animal e saúde pública, das condições ambientais e bem-estar animal. A associação Bons Amigos apoia o conceito de “Uma só Saúde”.

No período da manhã, acompanhei os casos de animais internados, realizei exames físicos e administrei medicações. Uma vez que os meios de diagnóstico eram poucos, este estágio foi bastante útil para desenvolver o raciocínio clínico e observar atentamente todos os sintomas dos animais. Para além disto, recebi casos de urgência e estabilizei pacientes em estado crítico.

No período da tarde, realizei diversas cirurgias, sozinha e acompanhada, tais como ovariectomias em cadelas e gatas, orquiectomia em cães e gatos, amputação de causas, enucleações e limpeza/ tratamento cirúrgico de feridas.

No geral, desenvolvi bastante as minhas competências práticas. Foi também importante a aquisição de ferramentas ao nível da comunicação com os tutores e da sensibilização para a necessidade de cuidarem dos seus animais.

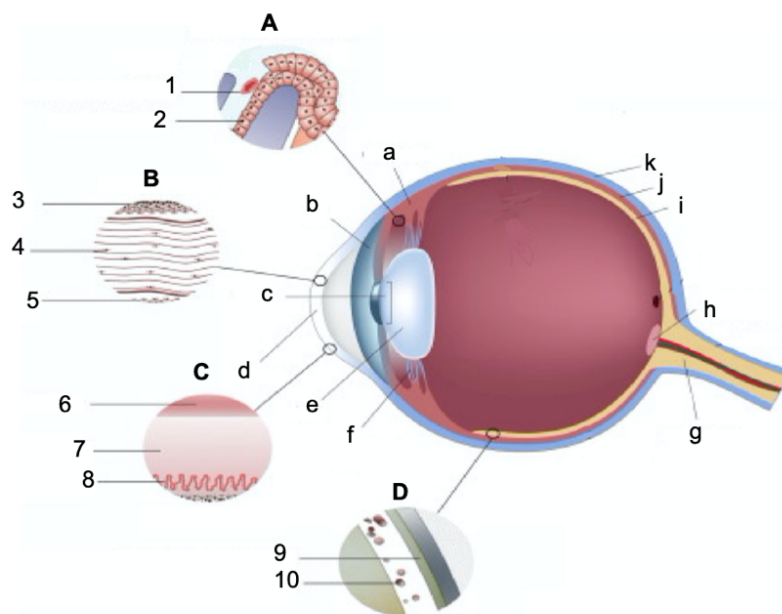
## PARTE II - Revisão Bibliográfica

### 1. Anatomia e barreiras oculares

O olho é um órgão constituído por três túnicas em íntima justaposição: a fibrosa, formada pela córnea e a esclera; a vascular, composta pela coróide, corpo ciliar e íris; e, por fim, a nervosa, da qual fazem parte a retina e o nervo ótico. Internamente no bulbo ocular existem três câmaras, a anterior, entre a córnea e a íris; a posterior, entre a íris e a lente; e a vítrea, entre a lente e a retina.

Em termos de anexos oculares, nos animais domésticos existem ainda três pálpebras, a superior, a inferior e a terceira pálpebra. Esta última, também denominada de membrana nictitante, é uma prega da conjuntiva com orientação dorsoventral que se prolonga do canto medial para o lateral (Konig and Lilebich 2016).

Todas estas estruturas resultam na existência de barreiras anatómicas e fisiológicas com funções protetoras para manter a homeostasia do bulbo ocular (Figura 1). As barreiras representam uma defesa natural contra a entrada de xenobióticos que possam eventualmente contactar com o olho e causar lesões (Gelatt 2014). A biodisponibilidade de fármacos fica, desta forma, afetada, sendo necessária a sua administração frequente durante o tratamento de doenças oculares, várias vezes ao longo dia (Sapino et al. 2019).



**Figura 1 – Anatomia do Bulbo ocular e suas Barreiras Anatômicas**

**Legenda:** **Barreiras Oculares** (A. Barreira Hemato-aquosa; B. Córnea; C. Filme Lacrimal; D. Barreira Hemato-Retiniana); **Constituintes do bulbo ocular** (a. corpo ciliar; b. íris; c. pupila; d. córnea; e. lente; f. ligamento suspensório; g. nervo ótico; h. disco ótico; i. retina; j. coróide; k. esclera); **Constituintes das Barreiras Oculares** (1. endotélio vascular; 2. Epitélio da coróide; 3. Epitélio; 4. Estroma; 5. Endotélio; 6. Camada Lipídica; 7. Camada Aquosa; 8. Camada de Mucina; 9. Epitélio pigmentado da Retina; 10. Endotélio dos Vasos da Retina)

## **1.1. Barreiras fisiológicas naturais**

### **1.1.1. Filme lacrimal**

As atividades fisiológicas naturais a nível ocular como o pestanejar, lacrimejar e a drenagem nasolacrimal representam um obstáculo à penetração dos fármacos, uma vez que todas estas atividades eliminam rapidamente qualquer substância que entre em contacto com o olho (Lin et al. 2019). Isto acontece, uma vez que a lágrima “lava” frequentemente a superfície ocular e, consequentemente, uma grande porção dos fármacos administrados é inativada pelas proteínas existentes na lágrima (Gelatt 2014). O filme lacrimal é composto por uma camada de mucina, uma fase aquosa e uma fase lipídica. O lacrimejo representa 90% das perdas de um fármaco após administração tópica (Lin et al. 2019). A presença de uma superfície ocular saudável está dependente da quantidade de lágrima e da sua composição. A mucina, uma das camadas da lágrima anteriormente referida que é produzida pelas células caliciformes, constitui uma barreira eficaz contra xenobióticos (Barar et al. 2008). A fase aquosa, que constitui o principal componente da lágrima, é produzida pela glândula lacrimal e pela glândula da terceira pálpebra e tem como função humedecer e nutrir a córnea (Konig and Lilebich 2016). Por outro lado, a fase lipídica é produzida nas glândulas de *Meibomius*, que se localizam na zona tarsal da pálpebra. Esta fase tem por objetivo impedir a rápida evaporação da lágrima (Arita et al. 2017).

### **1.1.2. Córnea**

A córnea é constituída por três camadas principais: o epitélio, o estroma e o endotélio. Estas camadas representam barreiras distintas no que se refere à absorção, uma vez que o estroma, que é uma camada hidrofílica, é coberto pelo epitélio externamente e pelo endotélio internamente, que são duas camadas lipídicas e hidrofóbicas (Lin et al. 2019). A passagem de fármaco pela córnea pode ocorrer por via transcelular, ou seja, através das células, ou por via paracelular, por entre as células. Esta última é bloqueada pelas junções intercelulares, as *tight junctions*, que envolvem completamente as células epiteliais da córnea e impedem a passagem de moléculas, exceto as de pequena dimensão e hidrofílicas. Por esta razão, a passagem de qualquer substância lipídica, através do epitélio, é feita através da via transcelular. No estroma, a água representa 78% da sua constituição, permitindo a passagem de substâncias hidrofílicas, mas constituindo uma barreira para substâncias lipofílicas. O endotélio, por outro lado, não apresenta resistência significativa relativamente à passagem de qualquer molécula que constitua o fármaco oftálmico (Gelatt 2014). Consequentemente, os fármacos anfifílicos - que apresentam simultaneamente carácter hidrofílico e lipofílico – terão mais facilidade em passar através da córnea. (Gelatt et al. 2013).

## 1.2. Conjuntiva

A conjuntiva é uma membrana mucosa vascularizada e translúcida que, consoante a localização pode ser dividida em conjuntiva bulbar e palpebral. Para efeitos da sua constituição, podemos considerar um epitélio e um estroma. O espaço intercelular neste tecido é maior do que no do epitélio da córnea e, conseqüentemente, a permeabilidade é geralmente superior (Huang et al. 2017). Para além disto, a superfície do epitélio da conjuntiva é vinte vezes superior à do epitélio da córnea (Urtti 2006). A conjuntiva, no entanto, funciona também como barreira ocular, uma vez que a absorção de fármacos é influenciada pela presença de capilares sanguíneos e linfáticos que representam perdas significativas dos mesmos para a circulação sistémica, diminuindo a sua biodisponibilidade ocular (Huang et al. 2017).

A conjuntiva é um dos tecidos mais imunologicamente ativos, sendo composta por folículos linfoides que sofrem hiperplasia em resposta a estimulantes (Bielory 2000). Conseqüentemente, surgem conjuntivites foliculares caso existam alergias ou inflamações associadas a qualquer fármaco ou corpo estranho.

## 1.3. Barreiras Hemato-oculares

A barreira hemato-ocular (BHO) é constituída por um epitélio e um endotélio, que apresentam *tight junctions*, impedindo a passagem de grande parte das proteínas e moléculas pequenas. A barreira hemato-retiniana e a hemato-aquosa são as duas principais BHOs (Gelatt 2014). As vias de administração sistémicas, tanto a oral como a intravenosa, são desta forma afetadas, tendo de ser administradas doses mais elevadas dos fármacos para se obterem concentrações terapêuticas a nível ocular. Por esta razão, e uma vez que pela via sistémica o fármaco se distribui para todo o organismo, há a possibilidade de ocorrência de efeitos secundários (Hornof et al. 2005).

### 1.3.1. Barreira Hemato-aquosa (BHA)

A BHA depende das *tight junctions* existentes no epitélio não pigmentado do corpo ciliar, que é altamente fenestrado (Singh et al. 2018). Esta barreira não é tão eficiente como a hemato-retiniana, uma vez que permite a passagem de proteínas por pinocitose. Para além disto, a difusão de solutos entre o humor aquoso e o humor vítreo é possível devido à inexistência de barreiras entre estes dois compartimentos, à exceção do lente (Gelatt 2014). A BHA previne a passagem de albumina do plasma para o humor aquoso, tal como a passagem de fármacos hidrofílicos. A inflamação da úvea anterior e a inexistência de lente podem comprometer a integridade da barreira, tornando-a mais permeável (Urtti 2006).

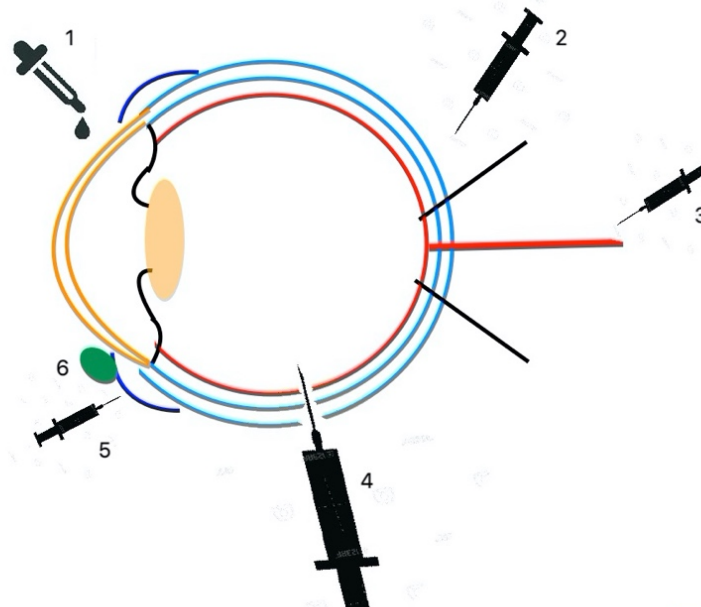


### 1.3.2. Barreira Hemato-retiniana (BHR)

A BHR é constituída pelo endotélio dos vasos retinianos, sendo não fenestrado e contendo *tight junctions*, e pelo epitélio pigmentado da retina, protegendo a retina das moléculas em circulação (Barar et al. 2008). Para além disto, a retina está também protegida devido à existência de macrófagos à periferia dos vasos retinianos, que têm função fagocitária (Mendes-Jorge et al. 2009). Esta barreira separa os tecidos da coróide dos tecidos retinianos. A porção mais permeável da BHR é o nervo ótico, em que substâncias conseguem passar da coróide para o tecido nervoso (Gelatt 2014). Ao contrário dos vasos retinianos, a vascularização da coróide tem um fluxo sanguíneo alto e paredes fenestradas. Porém, este fluxo constitui apenas uma pequena porção da circulação sistémica, não permitindo que a concentração de fármaco seja elevada na coróide e na retina, sendo a biodisponibilidade muito baixa (Urtti 2006).

## 2. Vias de administração ocular de fármacos

As características do bulbo ocular permitem a existência de diferentes vias de administração de fármacos (De Arruda Mello Filho et al. 2010), como é possível ver na Figura 2 (Original da autora). Cada uma destas vias vai ter influência sobre a biodisponibilidade, que corresponde à quantidade de substância ativa que foi absorvida do local de administração e que se distribuiu para e está disponível no local de ação do fármaco (Chow 2014).



**Figura 2 - Vias de Administração. Via tópica (1); Via Retrobulbar (2); Via Sistémica (3); Via Intraocular (4); Via Subconjuntival (5); Dispositivos de Distribuição de Fármacos (6)**

## **2.1. Administração tópica**

A via de administração tópica é a mais usada para o tratamento de doenças oculares, uma vez que 90% de todos os fármacos para uso oftalmológico se apresentam comercialmente sob a forma de preparações farmacêuticas para administração por esta via (Pijls 2007). Para além disto, a administração tópica não é invasiva e permite a aplicação fora de ambiente hospitalar. As preparações farmacêuticas para administração tópica ocular incluem os colírios, as preparações oftálmicas semissólidas (géis e pomadas) e os dispositivos de distribuição de fármacos (DDF), sendo estes últimos abordados numa categoria própria. (Bartlett e Jaanus 2008).

### **2.1.1. Colírios**

Os colírios são soluções ou suspensões estéreis, aquosas ou oleosas que contêm uma ou mais substâncias ativas (INFARMED 2005). São o meio de administração tópica de fármacos mais comum, sendo muitas vezes preferíveis às pomadas, uma vez que são de fácil aplicação e não interferem com a visão. Porém, o contacto do fármaco com o olho é pouco prolongado e inconsistente (Bartlett and Jaanus 2008).

Após administração de um colírio, o fluxo lacrimal remove os fármacos tópicos aplicados na superfície ocular. Como consequência, ao invés de absorção ocular, pode ocorrer absorção sistémica pelo saco conjuntival ou cavidade nasal. Para além disto, existe a barreira hemato-ocular que protege o olho de xenobióticos presentes no sangue. O tempo de absorção é apenas de alguns minutos e a biodisponibilidade é baixa, sendo por vezes inferior a 5% (Urtti 2006). A baixa biodisponibilidade pode ser justificada maioritariamente pelo desperdício dos fármacos e pela grande área conjuntival comparativamente à da córnea (Gause et al., 2015). Em medicina veterinária, o sucesso do tratamento tópico com colírios está por isso muito dependente da adesão ou *compliance* dos tutores e da persistência dos mesmos, ou seja, a capacidade de cumprimento da administração da dose na frequência prescrita, durante um certo período de tempo (Walt and Alexander 2016).

Apesar do seu uso vulgarizado, existem estudos laboratoriais e clínicos que demonstram que a sua aplicação prolongada pode ter efeitos secundários, tais como a instabilidade do filme lacrimal, devido à perda da camada lipídica da lágrima. Esta deixa de proteger a camada aquosa, levando a que esta se evapore rapidamente. Consequentemente, a aplicação de colírios por tempo prolongado pode ser causa de olho seco, causando

desconforto nos animais; para além disso, podem ocorrer reações alérgicas (Coroi et al. 2015).

### **2.1.2. Preparações oftálmicas semissólidas**

As preparações oftálmicas semissólidas são destinadas a serem aplicadas sobre a conjuntiva. Contêm uma ou mais substâncias ativas dissolvidas ou dispersas num excipiente apropriado, apresentando um especto homogéneo. As preparações oftálmicas semissólidas incluem os géis e as pomadas (INFARMED 2005).

#### **2.1.2.1. Géis**

Os géis são preparações semissólidas que são produzidos a partir dos colírios. Estes são sujeitos a alterações de temperatura e de pH, tornando-se mais viscosos. Consequentemente, o tempo de contacto do olho com o fármaco é superior (Walt and Alexander 2016). Os géis são bem tolerados pelos animais não causando desconforto aparente (Bartlett and Jaanus 2008).

#### **2.1.2.2. Pomadas**

As pomadas, tal como os colírios, são frequentemente usadas a nível ocular. Porém, estas fundem de forma rápida e o excesso pode causar blefarites (Marsden 1998). Ao contrário dos colírios, o tempo de contacto da pomada com o olho é maior, uma vez que as pomadas se acumulam nas margens das pálpebras, por serem mais espessas, prolongando assim o tempo de permanência. Contudo, a biodisponibilidade das pomadas é baixa (Bartlett and Jaanus 2008).

### **2.2. Administração sistémica**

Em oftalmologia veterinária, a administração sistémica é usada no tratamento de doenças palpebrais e infeções a nível da órbita. Porém a difusão de fármacos para o segmento anterior e posterior do bulbo ocular é limitado pela barreira hemato-aquosa e hemato-retiniana, respetivamente (Gelatt 2014). Esta via de administração deve ser apenas usada nos casos em que o local alvo é irrigado, ou seja, estruturas como a córnea, a lente ou o humor vítreo não devem ser considerados. As concentrações de fármacos vão depender de fatores como a absorção a nível do trato gastrointestinal, a vascularização do órgão alvo e das propriedades do fármaco em questão (Maggs et al. 2012).

## **2.3. Administração local**

A administração local divide-se em periocular, consistindo em injeções subconjuntivais ou retrobulbares, e administrações intraoculares que se dividem em intracameral ou intravítrea (Parikh 2017).

### **2.3.1. Administração periocular**

A administração periocular consiste na colocação de fármacos na região adjacente ao bulbo ocular, sendo muito útil no caso de doenças do segmento posterior deste órgão (Greve and Jorgensen 2017). Ao contrário das administrações tópicas, as injeções periorculares permitem que o olho tenha acesso a concentrações mais elevadas de fármacos (Bartlett and Jaanus 2008).

A administração periocular através de injeções subconjuntivais baseia-se na inserção de fármacos por baixo da conjuntiva, podendo ser administradas na conjuntiva que rodeia o bulbo ocular ou na conjuntiva palpebral. Estas estão indicadas no tratamento de lesões da córnea, esclera, úvea anterior e vítreo (Christie and Forsyth 2008). Esta via tem como vantagem o facto de o fármaco administrado não ter de ultrapassar a barreira conjuntival, não limitando a permeabilidade de moléculas hidrofóbicas (Greve and Jorgensen 2017). Para além disto, as perdas de fármaco são menores e, conseqüentemente, as concentrações no local alvo são maiores, logo maior também a biodisponibilidade. Outra vantagem é a possibilidade de administração pós cirúrgica, evitando a necessidade de tratamentos tópicos ou sistémicos associados à mesma (Bartlett and Jaanus 2008).

Por outro lado, as injeções no espaço retrobulbar são a via preferida quando é necessário o contacto directo do fármaco com a porção posterior do bulbo ocular (Greve and Jorgensen 2017). Esta via de administração é mais usada em cavalos e bovinos, não sendo usada em pequenos animais, uma vez que a via sistémica é mais segura e simples, tendo uma eficácia igualmente boa (Maggs et al. 2012). As complicações associadas a este tipo de administração incluem a possibilidade de perfuração do bulbo ocular, lesões do nervo ótico e dos músculos extraoculares e hemorragia orbitária (Gelatt 2014).

### **2.3.2. Administração intraocular**

A administração intraocular, que consiste em injeções intravítreas ou intracamerais, é raramente usada, uma vez que é necessária anestesia geral e porque existem riscos para o bulbo ocular, associados à administração para o bulbo ocular (Maggs et al. 2012).

Aquando da administração intracameral, os fármacos são injetados directamente na câmara anterior. Na maior parte das vezes, este tipo de administração é usado, durante

cirurgias intraoculares, para controlar hemorragias ou o tamanho da pupila com viscoelástico ou epinefrina, durante cirurgias intraoculares. Existem perigos associados a injeções intracamerais, tal como a toxicidade dos fármacos, que podem causar danos a nível do endotélio da córnea, com consequente edema, da íris e da córnea (Gelatt 2014).

Por outro lado, a administração direta na cavidade vítrea é o método mais eficaz de permitir uma concentração elevada de fármacos no local alvo e pode ser usada para tratar problemas ao nível do segmento posterior do olho. Porém, o seu uso em medicina veterinária está limitado atualmente à ablação química do corpo ciliar em casos de glaucoma (Gelatt 2014). Em medicina humana é uma via amplamente usada em casos de doenças retinianas (Bartlett and Jaanus 2008).

## **2.4. Dispositivos de distribuição de fármacos (DDFs)**

Com o objetivo de aumentar a biodisponibilidade de fármacos no olho, têm sido desenvolvidos, pela indústrias farmacêuticas, dispositivos de distribuição de fármacos (DDFs) (Joseph and Venkatraman 2017). Os DDFs permitem que as substâncias ativas estejam disponíveis nas concentrações necessárias, por períodos de tempo mais longos nas concentrações necessárias. Para além disto, apresentam vantagens relativamente aos colírios e pomadas, tais como; baixa toxicidade sistémica, pois as concentrações utilizadas, são inferiores; facilita a adesão à terapêutica em especial porque diminui a frequência de administração, nomeadamente a nível de doenças crónicas, que necessitam de tratamento vitalício; e maior estabilidade do fármaco sem necessidade de conservantes (Mariz 2018).

De acordo com o modo de aplicação, os DDFs podem ser classificados como insertos ou implantes. Os implantes têm a desvantagem de necessitarem de cirurgia ou, pelo menos, um procedimento médico com riscos e custos associados (Mariz 2018).

### **2.4.1. Insertos**

Os insertos são dispositivos que contêm fármacos e que são colocados no saco conjuntival de modo a ocorrer libertação lenta do fármaco. Estes têm muitas vezes uma matriz polimérica e podem classificar-se como solúveis e insolúveis, sendo que os últimos necessitam de remoção mais tarde, sendo esta uma vantagem dos insertos solúveis (Jervis 2016). Porém, a solubilização dos insertos está dependente das propriedades químicas do olho, por isso é natural que estes sejam mais suscetíveis a variações ao nível da cinética de libertação dos fármacos. Por outro lado, a cinética de libertação nos insertos insolúveis está dependente da interação polímero-fármaco-filme lacrimal, facilitando a sua manipulação, sem que existam grandes variações entre cada animal (Mariz 2018).

As vantagens dos insertos baseiam-se no facto de estes aumentarem o tempo de contacto do fármaco com a estrutura ocular, melhorando a biodisponibilidade do mesmo, face às outras administrações tópicas. Porém, a fácil remoção durante o sono ou migração com movimentos do olho constituem desvantagens, uma vez que sendo um inserto, não está fixo a nenhuma estrutura anatómica (Kumari et al. 2010).

## 2.4.2. Implantes

Os implantes foram desenvolvidos com o objetivo de reduzir a remoção do fármaco por parte do sistema de drenagem lacrimal. Para além disto, estes são uma solução para a baixa biodisponibilidade proporcionada pela existência da córnea, uma barreira física e química para os fármacos (Mariz 2018). Os implantes são DDFs que se podem classificar como polímeros biodegradáveis e não-biodegradáveis, permitindo a distribuição de fármacos durante vários meses a anos. Estes podem ser colocados em várias regiões do olho, tais como a subconjuntival, a episcleral, a intravítrea e a intracameral (Jervis 2016). Os implantes apresentam algumas vantagens perante as administrações tópicas que recorrem a colírios ou pomadas, uma vez que a taxa de distribuição está controlada, são usadas doses mais baixas de fármacos e, conseqüentemente, há menos efeitos sistémicos (Mariz 2018).

As vantagens e desvantagens associadas a cada via de administração estão esquematizadas na Tabela 1.

**Tabela 1 - Vantagens e desvantagens das vias de administração ocular.**

<b>Via</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b><i>Tópica</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não invasiva</li> <li>• Administração feita pelos tutores</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Baixa biodisponibilidade</li> <li>• Drenagem pelo ducto nasolacrimal</li> <li>• Barreira corneana</li> <li>• Frequência de administração alta</li> </ul>
<b><i>Sistémica</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não invasivo</li> <li>• Administração pelos tutores</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Baixa biodisponibilidade</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Barreira Hemato-aquosa</li> <li>• Barreira Hemato-retiniana</li> <li>• Efeitos secundários sistêmicos</li> </ul>
<b><i>Periocular</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Possibilidade de distribuição de fármacos pelo segmento anterior e posterior</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Invasivo</li> <li>• Riscos associados (Hemorragia por exemplo)</li> <li>• Necessária anestesia/sedação</li> <li>• Barreira Hemato-retiniana</li> </ul>
<b><i>Intraocular</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Distribuição de fármacos até à retina é eficaz</li> <li>• Ultrapassa bastantes barreiras oculares</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Invasivo</li> <li>• Necessária anestesia/sedação</li> <li>• Toxicidade</li> </ul>
<b><i>Insertos</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grande biodisponibilidade</li> <li>• Reduz significativamente a frequência de administração</li> <li>• Não invasivo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biofuncionalidade limitada</li> </ul>
<b><i>Implantes</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grande biofuncionalidade</li> <li>• Reduz significativamente a frequência de administração</li> <li>• Biocompatibilidade elevada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Invasivo</li> <li>• Necessária anestesia/sedação</li> </ul>

### 3. Estudos relativos a DDFs

#### 3.1. BODI®

O BODI® (*Bioadhesive Ophthalmic Drug Insert*) é um inserto solúvel de base polimérica que foi desenvolvido de forma a melhorar a biodisponibilidade dos fármacos. Para além das vantagens de ser um inserto ocular, vantagens essas já referidas anteriormente, o

BODI® contem um mucoadesivo incorporado que permite prolongar o seu tempo de permanência no olho (Pathak et al. 2016).

A conjuntivite, a queratoconjuntivite seca e as úlceras da córnea são as alterações oculares mais comuns encontradas em medicina veterinária. Por isso, em 2002, foi realizado um estudo em que o objetivo era comparar os efeitos do BODI® impregnado com gentamicina com os efeitos do colírio Tiacil Vet® (contendo gentamicina e dexametasona), no tratamento de cães com as alterações oculares mais comuns. A permanência do inserto no saco conjuntival foi de 7 dias, o mesmo tempo que durou o tratamento com Tiacil Vet®. Concluiu-se que o BODI® era tão eficiente quanto o Tiacil Vet®, uma vez que ambos permitiram que os sintomas de conjuntivite, queratoconjuntivite seca e algumas úlceras da córnea, desaparecessem (Baeyens et al. 2002).

### **3.2. Implante Supracoroidal em equinos**

A uveíte recorrente dos equinos (ERU) é a causa principal de cegueira nos cavalos, sendo considerada uma doença imunomediada. Como tal, a ERU é tratada com um fármaco imunossupressor, a ciclosporina A (Gilger et al. 2010). Para combater a recorrência desta doença e facilitar o tratamento, foram desenvolvidos implantes que permitem a libertação constante de ciclosporina A. Estes são colocados no espaço supracoroidal, adjacentes ao corpo ciliar. Como referido anteriormente, os implantes necessitam de um procedimento cirúrgico para a sua colocação. Consequentemente, existem complicações possíveis associadas tais como hiperémia conjuntival, úlceras da córnea superficiais, glaucoma, aumento da probabilidade de cataratas e, em certos casos, cegueira. A maior parte das complicações ocorrem devido à cirurgia aquando da realização do *flap* escleral (Hermans and Ensink 2013).

### **3.3. Gelfoam®**

O Gelfoam® é um inserto solúvel que tem várias utilizações e se apresenta sob a forma de uma esponja de gelatina absorvível. Este inserto pode ser colocado no saco conjuntival sob a forma de pequenos discos impregnados com fármacos (Plazonnet 2003).

Em 2014 foi realizado um estudo que comparava o uso do Gelfoam® impregnado com lidocaína e bupivacaína com a realização de injeções retrobulbares dos mesmos fármacos. O objetivo do estudo era perceber o efeito destas duas vias de administração relativamente a analgesia conseguida após uma enucleação em cães. Concluiu-se que não existiram diferenças significativas ao nível da analgesia obtida quando utilizada uma via ou outra. (Ploog et al. 2014).



Mais recentemente, em 2019, foi realizado um novo estudo, em que um Gelfoam® impregnado com ropivacaína era inserido na órbita de cães que tinham sido sujeitos a enucleações. Comprovou-se que a analgesia era superior nos animais com o Gelfoam® comparativamente com os sujeitos a injeções retrobulbares. Para além disto, não foram observados efeitos adversos (Shilo-Benjamini et al. 2019).

### **3.4. Lentes de contacto Night & Day®**

As lentes de contacto são uma alternativa aos colírios na distribuição local de fármacos a nível do bulbo ocular, podendo ser bastante eficazes ao nível da córnea, devido à sua localização. Recentemente, em 2012, foi realizado um estudo relativo ao tratamento do glaucoma agudo em Beagles com recurso a lentes de contacto terapêuticas. Este estudo consistia na medição da pressão intraocular (PIO) após o uso de lentes de contacto NIGHT & DAY® impregnadas com Timolol, comparativamente aos valores de PIO obtidos com o uso de colírios deste mesmo fármaco. O Timolol é um antagonista beta-adrenérgico que é usado no tratamento do glaucoma, diminuindo a pressão intraocular. Com o estudo em questão, concluiu-se que a PIO diminuía mais rapidamente com o uso das lentes de contacto impregnadas de fármaco, o que demonstra que estas apresentam uma biodisponibilidade superior do fármaco (Peng et al. 2012).

### **3.5. Implantes Episclerais em cães**

A queratoconjuntivite seca (KCS) é uma doença muito comum em cães, caracterizada pela falta de produção de lágrima. Esta deficiência resulta em inflamação, dor e, em alguns casos, úlceras e perda de visão. A KCS está associada a uma causa autoimune, pelo que o seu tratamento é feito com ciclosporina. Por isso, em 2015, foram colocados 27 implantes episclerais de ciclosporina em cães com KCS. Estes foram avaliados nos dias 60 e 90 após a sua colocação. Para além de não existirem sinais de toxicidade, no dia 60, a maior parte dos cães incluídos no estudo apresentavam redução dos níveis de inflamação e dor associadas à doença, melhorando a sua sintomatologia até ao dia 90 (Barachetti et al. 2015).

### **3.6. Lente intraocular com dexametasona**

A cirurgia de cataratas é uma cirurgia muito comum em Medicina Veterinária que induz algum grau de inflamação no período pós-operatório. Por isso, muitas vezes é necessário o uso de colírios com corticosteroides para combater a inflamação associada. Em 2010, foi realizado um estudo comparativo em coelhos, nos quais era colocada uma lente intraocular revestida ou não por dexametasona. Colheu-se humor aquoso no dia 1, 3, 7, 14 e 28 do

período pós-cirúrgico e mediram-se os parâmetros associados à inflamação, tais como os níveis de prostaglandinas, de leucócitos e de proteínas. Concluiu-se que ao longo dos dias, nos animais com a lente intraocular revestida, as prostaglandinas se encontravam em níveis inferiores, tal como a quantidade de leucócitos e de proteínas. Isto significa que, neste estudo, as lentes revestidas com dexametasona foram responsáveis pela diminuição significativa dos níveis de marcadores inflamatórios associados à cirurgia das cataratas (Kugelberg et al. 2010).

#### **4. ineye®**

Tal como já foi referido anteriormente, as vias de administração de fármacos a nível ocular são numerosas. Porém, a biodisponibilidade associada é baixa, nomeadamente na administração tópica. Esta é a via mais utilizada atualmente no tratamento de doenças oculares e, para além da baixa biodisponibilidade, é também necessária uma frequência de administração elevada, devido à existência das barreiras anatómicas já referidas.

Desta forma, para contrariar este problema, na Universidade de Coimbra, um grupo de investigação desenvolveu um inserto ocular, que foi posteriormente patenteado e denominado de Ineye® (Figura 3) (Mariz 2018). Este inserto destina-se a ser potencialmente utilizado numa grande variedade de doenças, como o glaucoma, queratoconjuntivite seca e tratamentos no pós-operatório de cirurgias oculares, nomeadamente da cirurgia de cataratas, tão comum em medicina humana e cada vez mais frequente em medicina veterinária. Com o uso deste DDF, os fármacos seriam libertados e consequentemente distribuídos de acordo com a dose, taxa e período de tratamento necessários. Na sua tese de doutoramento, Mariz realizou vários testes *in vitro* ao nível da biocompatibilidade em células de córnea, obtendo resultados encorajadores (Mariz 2018). Este inserto foi desenvolvido para uso em medicina humana, melhorando bastante a qualidade de vida de pessoas com doenças oculares crónicas. O mesmo foi pensado para medicina veterinária. Tanto numa das áreas como na outra, não existem até ao momento quaisquer estudos *in vivo*.



**Figura 3 - Inserto ocular ineye® (Imagem cedida por Marcos Mariz)**

#### **4.1. Composição**

O ineye® é um inserto ocular não solúvel de base polimérica. A utilização de polímeros permite aumentar a viscosidade dos colírios e pomadas, aumentando a sua permanência tanto a nível da córnea como da conjuntiva. Os polímeros utilizados em insertos como os DDFs servem de veículo, contendo os fármacos incorporados (Kaur et al. 2000).

No caso do ineye®, os polímeros que o constituem são o polietilenoglicol (PEG) e a policaprolactona (PCL) (Mariz 2018). O PEG é um polímero hidrofílico muito usado em DDFs por ter biocompatibilidade elevada, uma vez que a interação corpo-polímero é quase nula (Xu et al. 2017). Para além disto, apresenta um carácter plastificante, permitindo que seja modificado de acordo com o objetivo final. Por outro lado, a PCL é um polímero hidrofóbico que apresenta resistência mecânica e é de difícil degradação (Willerth 2017). A grande miscibilidade destes dois polímeros permite a formação de um copolímero anfifílico, ou seja, que contém tanto uma parte hidrofóbica como hidrofílica. Este tem grande utilidade a nível de DDFs uma vez que possibilita tanto a imobilização de fármacos hidrofóbicos como de fármacos hidrofílicos (Adams et al. 2003).

#### **4.2. Cinética**

Os DDFs de matriz polimérica baseiam-se em três mecanismos para libertação dos fármacos: a difusão, a absorção e a degradação. No caso do ineye®, um inserto não solúvel, a difusão vai ter o papel mais importante (Arifin et al. 2006). Como já referido, este inserto tem como objetivo contribuir para a distribuição de fármacos para o tratamento de processos

inflamatórios, infecciosos, ou para o controlo de doenças crónicas como o glaucoma. Por isso, o Investigador Marcos Mariz e a sua equipa da Universidade de Coimbra desenvolveram o DDF denominado ineye®, de forma a que este permitisse uma difusão do fármaco a nível ocular a uma taxa constante para doenças crónicas e, por outro lado, no caso de processos inflamatórios, uma distribuição de acordo com a Lei da Difusão de *Fick*. Esta lei afirma que o fluxo vai desde um local de maior concentração para um de menor, proporcionalmente ao gradiente de concentração. Isto significa que a dose inicial é elevada e vai diminuindo gradualmente ao longo do período de tratamento. Os tempos de libertação de fármacos *in vitro* variam entre 1 semana e 6 meses em qualquer um dos mecanismos de difusão (Mariz 2018).

## **5. Mucoadesão**

A mucoadesão refere-se a uma interação entre uma superfície de mucina, por exemplo no caso do epitélio da córnea lubricado pela lágrima e um polímero transportador de fármacos. Esta interação tem vantagens no que toca ao aumento da biodisponibilidade, uma vez que, ao entrar em contacto com a mucina, existe a formação de muco, permitindo que o tempo de contacto com o fármaco seja mais prolongado (Figueiras et al. 2007). Os mucoadesivos mais utilizados são polímeros hidrossolúveis que não atravessam as barreiras oculares, tal como o ácido hialurónico (Yavuz and Kompella 2016). Porém, apesar de melhorarem o tempo de permanência dos polímeros transportadores de fármacos, a mucoadesão é limitada, uma vez que a mucina tem um tempo de *turnover*, em que a mesma é renovada (Vasir et al. 2003).

### **5.1. Ácido Hialurónico (AH)**

O AH é um polímero não irritante que tem sido usado na oftalmologia para diferentes aplicações, uma vez que faz parte da composição natural do vítreo. Tal como referido, o AH tem propriedade mucoadesivas, tornando-o uma opção de revestimento dos DDFs. Para além disto, este polímero é também usado durante as cirurgias intraoculares sendo injetado na câmara anterior para proteção do endotélio da córnea e para manter a forma da câmara anterior após a sua abertura cirúrgica (Barbault-Foucher et al. 2002).

### **5.2. Carbopol®**

O Carbopol® é um polímero sintético derivado do ácido poliacrílico. Devido à sua natureza sintética, as propriedades físico-químicas podem ser alteradas de modo a que o Carbopol® tenha diversas aplicações biomédicas, entrando na constituição de pomadas e géis oftálmicos. Porém, este polímero tem uma natureza ácida e pode ser tóxico para o olho.

Por isso, torna-se importante que as concentrações sejam baixas, mas em níveis suficientemente altos para que não comprometam o tempo de retenção na córnea. Para além disto, não existem evidências de que o Carbopol® cause irritação a nível ocular (Jumelle et al. 2020).

## **PARTE III – Biocompatibilidade do inserto ineye® em cães**

### **1. Introdução**

Para fazer chegar fármacos ao bulbo ocular podem ser utilizadas várias vias. A via de administração tópica é a mais usada, existindo colírios, preparações oftálmicas semissólidas (géis e pomadas) e dispositivos de distribuição de fármacos (DDF).

Com o objetivo de aumentar a biodisponibilidade de fármacos no olho, um grupo de investigadores da Universidade de Coimbra desenvolveu um inserto ocular, que foi posteriormente patenteado e denominado de ineye® (Mariz 2018). Com o uso deste DDF, os fármacos seriam distribuídos de acordo com a dose, taxa e período de tratamento necessários.

Foram realizados testes *in vitro* ao nível da biocompatibilidade em culturas de células de epitélio da córnea (Mariz 2018). Não existiam até ao momento quaisquer estudos *in vivo*.

### **2. Objetivos**

O objetivo desta dissertação consistiu em avaliar a biocompatibilidade do inserto ocular ineye® *in vivo*, neste caso concreto em cães. O termo biocompatibilidade refere-se à capacidade de um organismo vivo e um material não vivo serem compatíveis (Wang et al. 2019). Desta forma, a biocompatibilidade divide-se em dois grandes princípios: biofuncionalidade do material e tolerância do organismo vivo à presença do mesmo, ou seja, biossegurança (Lopes 2017).

Em primeiro lugar, pretendeu-se perceber se o ineye® era funcional quando em contacto com tecidos orgânicos *in vivo*, ou seja, se era biofuncional. A biofuncionalidade foi testada através da avaliação do tempo de permanência do inserto ao nível do saco conjuntival em cães, sem que fosse expulso naturalmente.

Em segundo lugar, pretende-se saber se nos cães incluídos no estudo, saudáveis, existia a capacidade de tolerar e de se adaptarem à presença constante do ineye®, sem que existissem lesões oculares associadas nem desconforto provocado pela sua presença. Para efeitos do estudo de tolerância, o exame oftálmico sistemático nos vários tempos do ensaio identificou sinais de desconforto ou inflamação ocular eventualmente motivados pela presença do inserto.

Para além destes dois objetivos principais, tentou-se atingir um terceiro objetivo, compreendendo qual o formato ideal do DDF no sentido de obter o maior tempo de permanência possível no cão.

### **3. Materiais e Métodos**

#### **3.1. Amostra populacional em estudo**

De forma a cumprir os objetivos deste trabalho, foi selecionada a espécie canina para o estudo proposto.

Os animais não eram animais de experimentação, tinham um tutor que foi devidamente esclarecido antes de o animal ser incluído no estudo.

Todos os tutores, de forma a garantir que tinham total conhecimento do estudo e que autorizavam a inclusão do seu animal, assinaram uma declaração de consentimento informado (Anexo 1). A Comissão de Ética para a Investigação e o Ensino da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa aprovou a realização deste estudo (Parecer nº 015/2020). Para além disto, a utilização dos dados recolhidos foi autorizada pelos tutores dos animais em questão.

##### **3.1.1. Critérios de inclusão na amostra**

À data de admissão no estudo, os animais estavam aparentemente saudáveis e deveriam apresentar um exame oftalmológico normal.

Neste exame foram incluídos vários parâmetros:

- 1) Observação externa dos olhos, pálpebras e estruturas perioculares;
- 2) Avaliação da resposta de ameaça e dos reflexos palpebral, corneano, pupilar direto e consensual, de ambos os olhos;
- 3) Realização do Teste de Schirmer (Schirmer Tear Test Strips; Eickemeyer, Sunbury-on-Thames, Reino Unido) de modo a avaliar a produção lacrimal;
- 4) Medição tripla e consecutiva da PIO de cada olho com o tonómetro TonoVet® (Kruuse; Dinamarca);
- 5) Biomicroscopia com Lâmpada de Fenda (Kowa SL15; Tóquio, Japão) em condições de luminosidade reduzida;
- 6) Fundoscopia com recurso a um Oftalmoscópio indireto modificado (PanOptic™ Ophthalmoscope, Welch Allyn®; Skaneateles Falls, E.U.A.) em condições de luminosidade reduzida.

Foram excluídos animais que apresentassem alterações em qualquer um destes parâmetros.

Para além disso, os animais deveriam ter um temperamento calmo, para permitir a manipulação ocular sem grandes sobressaltos.

### 3.2. Insertos oculares testados

Neste estudo, os insertos utilizados não continham nenhum fármaco, apenas a sua composição base. Os nossos objetivos eram perceber se este DDF apresentava uma boa biofuncionalidade e se causava algum tipo de lesão ocular nos cães em estudo.

Sendo assim, não foi estudada a libertação nem o efeito de nenhum fármaco.

Os insertos foram produzidos pela empresa INEYE PHARMA, onde foram esterilizados durante 30 minutos sob a ação da luz ultravioleta.

Foram enviados por correio, acondicionados em tubos de *ependorf*, igualmente sujeitos à radiação esterilizante, entre dois pedaços de algodão hidrofóbico, que impediam a entrada de humidade.

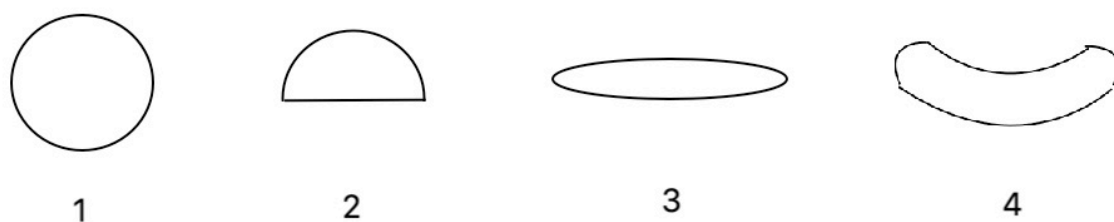
Nos animais incluídos no estudo foi colocado um inserto ineye®, no saco conjuntival inferior ou superior, não hidratado ou previamente hidratado com soro fisiológico (NaCl a 5%) 12 horas antes da colocação.

Vários formatos e tamanhos foram testados, entre eles 8 esféricos, 2 hemisféricos, 3 oblongos e 5 insertos com formato de feijão.

As respetivas formas estão representadas na Figura 4. Os insertos tinham um comprimento máximo de 4 mm e um peso máximo de 40 mg.

No decorrer do estudo, e como forma de aumentar o tempo de permanência, foi decidido adicionar ao DDF um mucoadesivo (ácido hialurónico). Foram assim incluídos no estudo 9 insertos revestidos por um mucoadesivo, sendo 6 esféricos, 1 hemisférico e 2 com formato de feijão.

Os insertos com AH não foram hidratados, uma vez que o soro fisiológico iria remover o mucoadesivo que os revestia.



**Figura 4 - Formatos ineye®. Esférico (1); Hemisférico (2); Oblongo (3); Formato Feijão (4)**

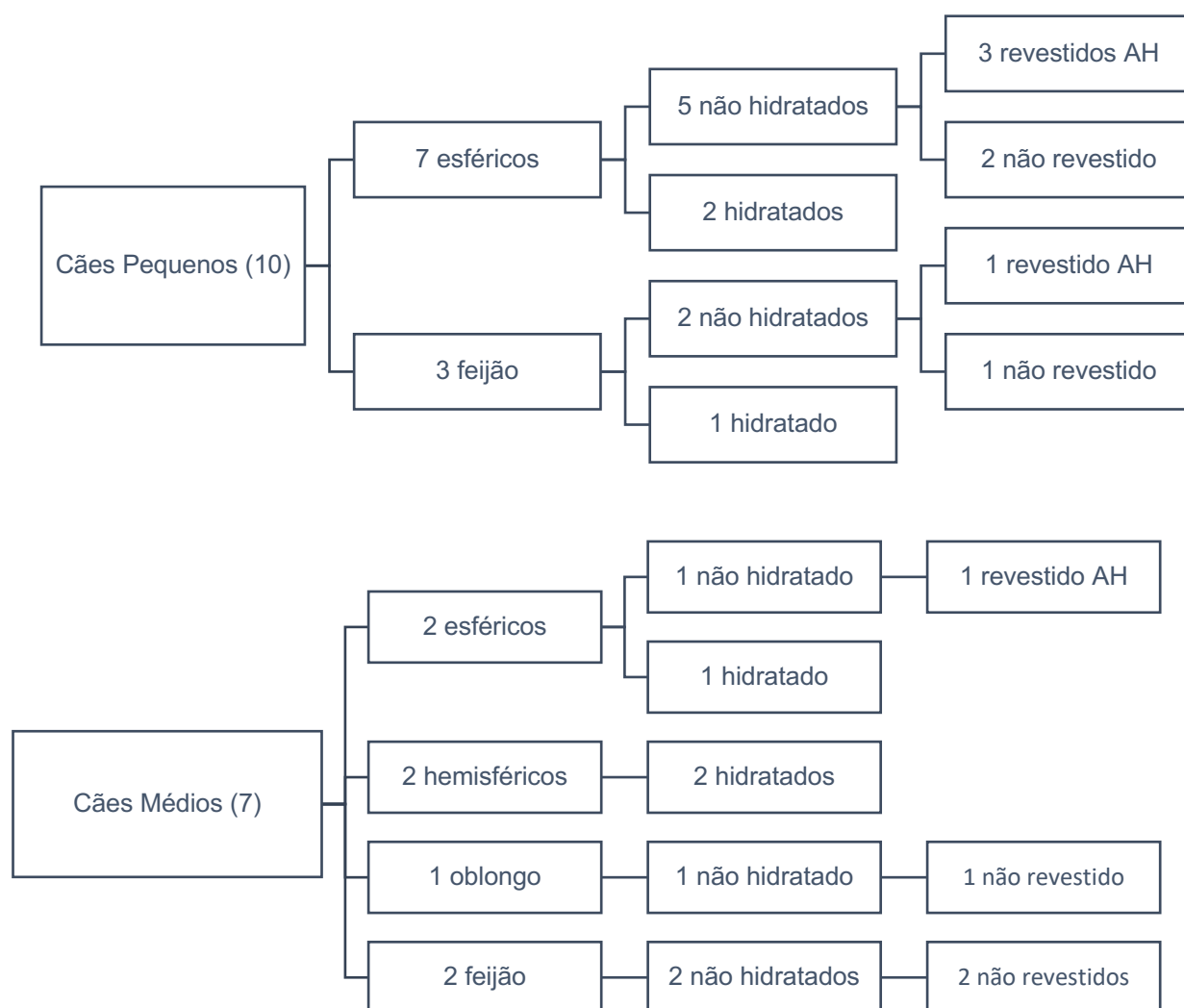
### 3.3. Grupos de animais

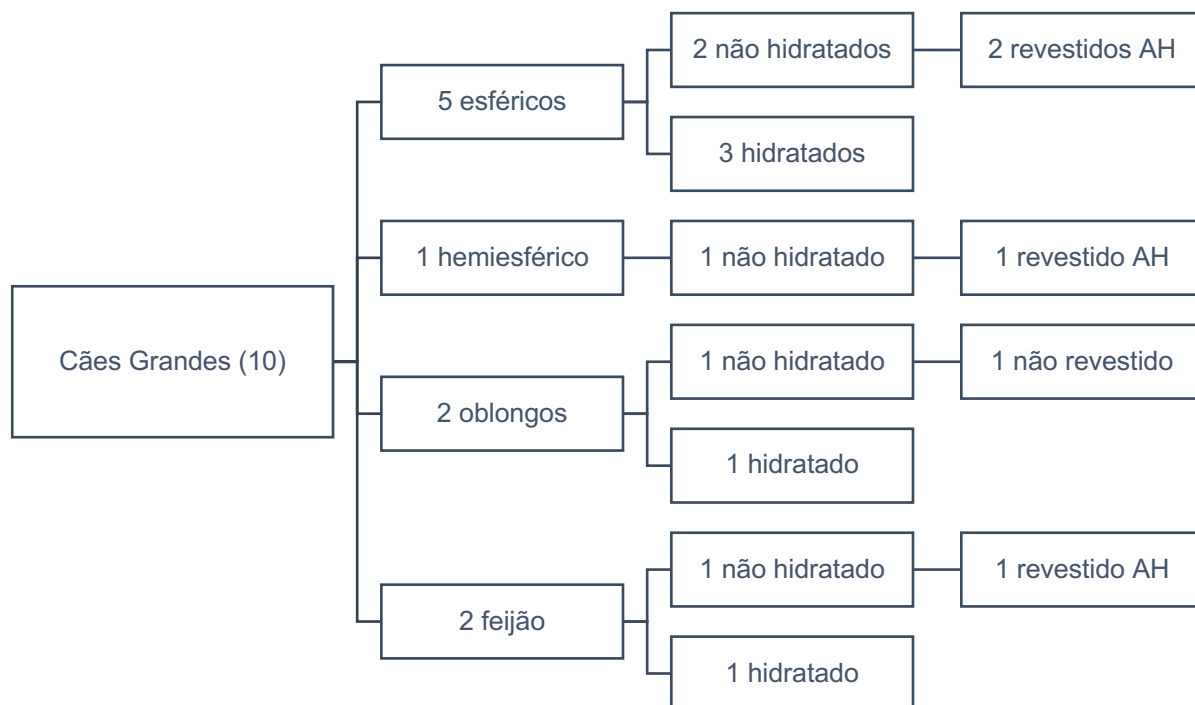
Uma vez que existe uma grande variabilidade de raças dentro dos cães mesocefálicos, foram criados grupos de cães de acordo com o peso, sendo que os cães com pesos até 10 Kg pertenciam ao grupo “Cães Pequenos”, com pesos entre 10 a 20 Kg ao grupo “Cães



Médios” e com mais de 20 Kg ao grupo “Cães Grandes”. Os grupos em estudo e a distribuição dos vários insertos testados está devidamente representada na Tabela 2.

**Tabela 2 - Amostra em estudo**





### 3.4. Metodologia

Foi desenhado um protocolo experimental para facilitar a sistematização da recolha de dados.

Este protocolo consistia na realização de um exame oftálmico completo antes da colocação do inserto e 6 horas, 24 horas e diariamente até 7 dias após a colocação do inserto, de forma a garantir que este continuava presente no saco conjuntival e que a sua presença não desencadeava nenhuma lesão inflamatória ou fenómeno de rejeição.

Os tempos de permanência do inserto ocular ao nível do saco conjuntival foram registados para estudo da sua biofuncionalidade. Esta foi testada através do número de horas/dias durante os quais o inserto permaneceu no saco conjuntival sem que sofresse expulsão accidental. Neste sentido, avaliou-se o tempo decorrido até à expulsão do inserto, em horas.

Para além disto, para efeitos do estudo de tolerância, o exame oftálmico tinha também como objetivo identificar e classificar de acordo com a gravidade, seis sinais de desconforto ou inflamação ocular: hiperémia conjuntival, epífora, quemose, lesões corneais, presença de corrimento ocular e prurido. Estes sinais clínicos foram classificados numa escala de 0 a 3, sendo o “0” normal, “1” alteração leve, “2” alteração moderada e “3” alteração grave. Caso houvesse algum sinal de alteração grave, o procedimento estipulava que o inserto tinha de ser removido e o ensaio em questão era interrompido. O comportamento do animal, relativamente à presença de um corpo estranho do olho, tornou-se também importante para

compreender se o ineye® era percebido pelo paciente. Com estes parâmetros foi possível determinar a tolerância do paciente ao inserto testado.

Antes da colocação do ineye®, independentemente do formato, foi aplicada uma gota de anestésico tópico (Anestocil®, cloridrato de oxibuprocaina, Laboratório Edol, Carnaxide, Portugal), para facilitar a colocação do inserto e abolir a sensibilidade da córnea por um curto período (aproximadamente 30 minutos), de forma a evitar a tentativa de remoção imediata por parte do animal.

Foi realizada a contenção suave da cabeça do animal, foram utilizadas luvas e o inserto foi gentilmente colocado no fundo de saco conjuntival inferior ou superior pela investigadora C. Marques nos 27 animais em estudo (Figuras 5 e 6).

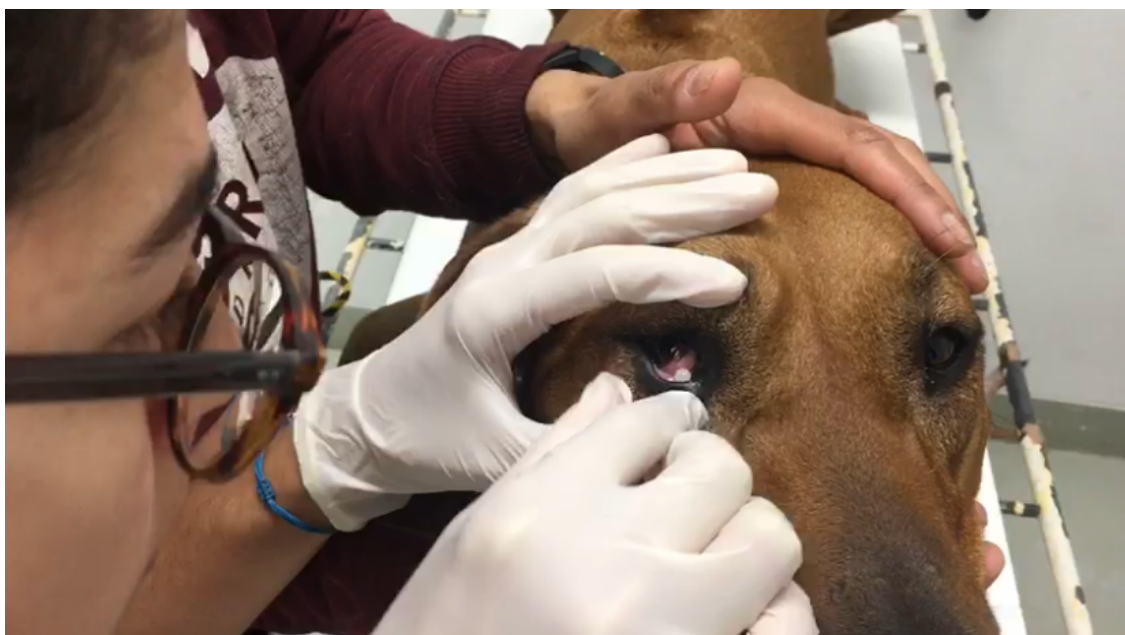
Em relação ao local de colocação do inserto, existiram duas possibilidades: nalguns animais foi colocado no saco conjuntival inferior e noutros no saco conjuntival superior.

Uma vez que era necessária a realização de um exame oftálmico diário, os cães selecionados pertenciam a funcionários e professores da Faculdade de Medicina Veterinária que levavam os seus animais todos os dias para esta instituição.

Os dados recolhidos foram registados numa ficha criada para o efeito que se apresenta em anexo (Anexo 2).



**Figura 5 - Colocação do inserto**



**Figura 6 - Colocação do inserto no fundo de saco conjuntival inferior, sendo possível visualizar a membrana nictitante cujo movimento pode ter propiciado a expulsão do inserto**

### **3.5. Análise Estatística**

O processamento dos dados foi realizado com recurso ao *IBM SPSS Statistics* versão 25. Para análise da amostra de cães em estudo e do tipo de inserto colocado, recorreu-se a métodos estatísticos descritivos. Para variáveis qualitativas, como a presença de mucoadesivo ou não, foram efetuadas frequências absolutas e relativas.

Os testes de significância correspondem a regras que nos permitem rejeitar ou não uma hipótese estatística, tendo por base os resultados obtidos. Assim, sempre que seja necessário, a hipótese considerada é:

H0: Não existe significância estatística;

H1: Existe significância estatística;

Considerando um nível significância de 5%, sempre que o valor de *p-value* seja superior a 0,05, não existe evidência para rejeitar a hipótese nula (H0) e por isso pode dizer-se que a variável não se apresenta como significativa. Pelo contrário, quando o valor de *p* é inferior a 0,05, existe evidência para rejeitar a hipótese nula, pelo que a variável se assume como significativa.

## 4. Resultados

### 4.1. Amostra em estudo

A amostra em estudo era constituída por 27 cães, entre os quais 37% eram de porte pequeno e igual percentagem era de grande porte. Os restantes 26% referem-se a cães de porte médio, sendo que existem sete animais neste grupo, conforme consta na tabela 3.

**Tabela 3 - Distribuição de cães quanto ao tamanho.**

Grupo de Cães	N	%
grandes	10	37,0
médios	7	26,0
pequenos	10	37,0
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>100,0</b>

**Legenda:** Grupos de cães de acordo com o peso: **Grandes** – cães com mais de 20 Kg; **Médios** – cães com peso entre os 10 kg e os 20 kg; **Pequenos** – cães com peso inferior a 10 kg;

### 4.2. Insertos oculares testados

No que se refere aos insertos oculares testados, a maioria (51,9%) apresentava um formato esférico, enquanto 25,9% possuía um formato em forma de feijão, conforme consta na tabela 4. Em três casos em que o formato do inserto era hemisférico e igual número em que o referido formato era oblongo, o que corresponde a 11,1%, respetivamente.

**Tabela 4 - Formato do inserto ocular testado.**

Formato	N	%
esférico	14	51,9
feijão	7	25,9
hemisféric	3	11,1
oblonga	3	11,1
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>100,0</b>

De acordo com a tabela 5, cerca de 59,3% dos insertos não se encontram hidratados, sendo que os restantes 40,7% apresentavam a referida hidratação.

Entre os insertos não hidratados, alguns foram revestidos por uma substância mucoadesiva. Neste sentido, houve apenas 9 casos em que o inserto não hidratado se

encontrava revestido pelo referido muco, o que corresponde a 33,3% do total da amostra (tabela 6).

**Tabela 5 - Distribuição dos insertos hidratados.**

<b>Hidratado</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
não	16	59,3
sim	11	40,7
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>100,0</b>

**Tabela 6 - Distribuição dos insertos revestido pelo mucoadesivo.**

<b>Mucoadesivo</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
não	18	66,7
sim	9	33,3
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>100,0</b>

#### **4.3. Local de colocação do inserto**

Em relação ao local de colocação do inserto, em 77,8% dos casos o inserto foi colocado entre a pálpebra inferior e o bulbo ocular. Houve seis casos em que a colocação ocorreu entre a pálpebra superior e o bulbo ocular, o que corresponde a 22,2% do total de animais em estudo, conforme consta na tabela 7.

**Tabela 7 - Distribuição dos insertos de acordo com o saco conjuntival de colocação.**

<b>Palpebra</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
inferior	21	77,8
superior	6	22,2
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>100,0</b>

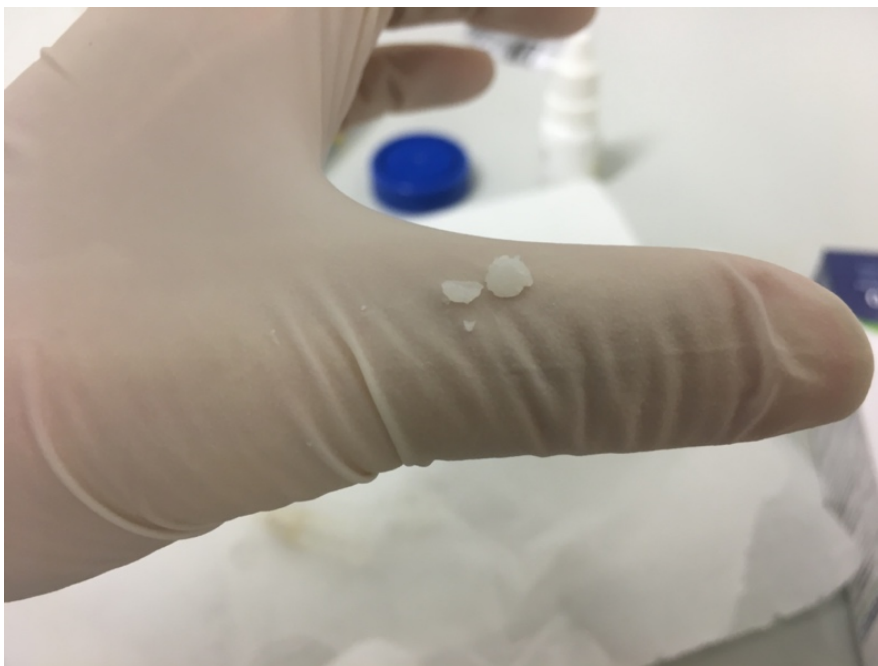
#### **4.4. Biofuncionalidade**

A biofuncionalidade foi testada através do tempo durante o qual o inserto permaneceu no saco conjuntival. Nesse sentido, avaliou-se o tempo até à expulsão do inserto, em horas.

Assim, 11,1% dos cães expulsaram o inserto durante a primeira hora do ensaio experimental. Em 48,1% dos cães o inserto foi expulso em menos de seis horas, sendo que em três destes casos ocorreu quebra do inserto. Em 22,2% dos casos, o inserto demorou até 24 horas a ser expulso.

Contudo, houve um caso em que a permanência do inserto foi de 24 horas, apesar deste se ter partido (Figura 7), conforme consta na tabela 8.

Houve ainda um único caso no qual o inserto demorou mais de 48, mas menos de 72 horas a ser expulso.



**Figura 7 - Aspeto do inserto partido.**

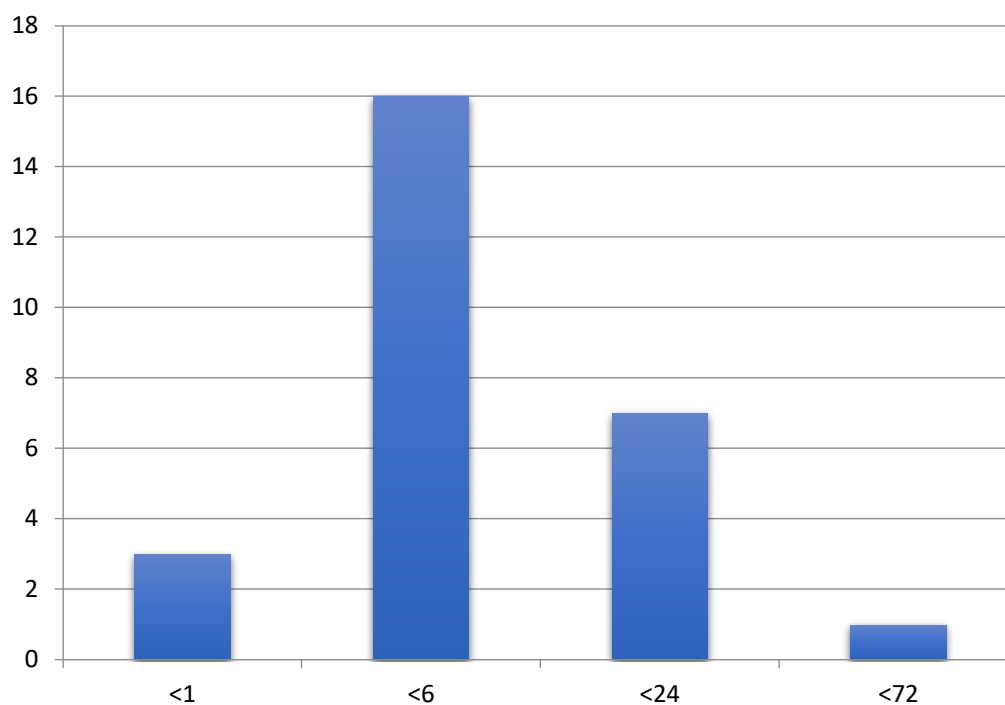
**Tabela 8 - Tempo decorrido até à expulsão (h) do inserto.**

<b>Tempo até expulsão (h)</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<1	3	11,1
<6	13	48,1
<6 (partiu)	3	11,1
<24	6	22,2
<24 (partiu)	1	3,7
<72	1	3,7
Total	27	100,0

**Legenda:** N = número de insertos

O gráfico 1 representa a distribuição descrita, predominando os casos de insertos com tempos de expulsão inferior a 6 horas.

**Gráfico 1 - Biofuncionalidade**



**Legenda:** Frequência dos tempos de expulsão em horas

#### **4.5. Outras espécies**

Foram realizados dois ensaios preliminares noutras espécies, para tentar perceber se a permanência do inserto seria mais duradoura.

Foi testada a permanência de um inserto esférico em dois gatos, tendo o inserto sido imediatamente expulso em ambos os casos (Figura 8).



**Figura 8 - Colocação de inserto em gato com expulsão imediata.**





**Figura 9 - Visualização de inserto no fundo de saco conjuntival de um equino.**

Foi testada a permanência de um inserto esférico num cavalo, em várias localizações diferentes, e também foi imediatamente expulso (Figuras 9).

#### **4.6. Tolerância**

A tolerância à presença do inserto foi testada através da avaliação da ocorrência de eventuais lesões oculares que a sua presença ao nível do saco conjuntival poderia causar.

Os sinais avaliados foram a hiperémia conjuntival, a epífora, a quemose, as lesões corneais, a presença de corrimento ocular e o prurido na região periocular. A avaliação foi realizada por Biomicroscopia com Lâmpada de Fenda (Kowa SL15; Tóquio, Japão) em condições de luminosidade reduzida pelo investigador (C. Marques) e classificados numa escala de 0 a 3, em que 0 era normal e 3 era gravemente alterado.

Nestas experiências não se detetaram quaisquer alterações nos parâmetros em estudo em nenhum dos olhos testados.

Pudemos concluir que a tolerância à presença do inserto, nos tempos de permanência em questão, foi de 100%.

No caso de colocação dos insertos revestidos com o mucoadesivo, passado uns minutos era visível um muco esbranquiçado no canto medial do olho (Figura 10).



**Figura 10 - Visualização de muco esbranquiçado no canto medial do olho num caso em que se procedeu à colocação de um inserto revestido com substância mucoadesiva.**

## **4.7. Caracterização dos insertos**

### **4.7.1. Formato**

Em todos os casos em que os animais demoraram menos de uma hora a expulsar o inserto foi colocado um inserto com formato esférico. Este facto poderia evidenciar a existência de uma relação entre o tempo até à expulsão e o formato do inserto utilizado. Porém, o inserto que permaneceu mais de 48 horas e menos de 72 horas também era deste mesmo formato.

Relativamente aos cães que demoraram até seis horas a expulsar o inserto, em 61,5% foi colocado um inserto com formato esférico. Em 15,4% foram colocados insertos com formato hemisférico e em igual percentagem com formato oblongo.

Entre os cães que expulsaram o inserto até às 6 horas, mas o mesmo se partiu, predominaram os formatos de feijão, facto que permitiu concluir que o formato de feijão foi mais vulnerável à quebra.

Por outro lado, entre os cães que demoraram até 24 horas a expulsar o inserto, em 50% deles foi colocado o formato de feijão, enquanto 33,3% teve no seu saco conjuntival um inserto de formato esférico e, no caso restante, o inserto era hemisférico, conforme consta na tabela 9. O único caso em que o tempo de expulsão foi inferior a 24 horas, mas o inserto se partiu, foi referente a um inserto em formato de feijão.

**Tabela 9 - Relação entre o tempo até à expulsão e o formato do inserto.**

Formato	Tempo até expulsão (h)											
	<1		<6		<6 (partiu)		<24		<24 (partiu)		<72	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
esférico	3	100,0%	8	61,5%	0	0,0%	2	33,3%	0	0,0%	1	100,0%
feijão	0	0,0%	1	7,7%	2	66,7%	3	50,0%	1	100,0%	0	0,0%
hemisférico	0	0,0%	2	15,4%	0	0,0%	1	16,7%	0	0,0%	0	0,0%
oblonga	0	0,0%	2	15,4%	1	33,3%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%

#### 4.7.2. Hidratação e revestimento com mucoadesivo

Entre os animais que demoraram menos de uma hora a expulsar o inserto, existia um caso de hidratação e dois casos de não hidratação do inserto, sendo que nestes últimos, um deles era revestido com substância mucoadesiva e o outro não.

Relativamente aos cães que demoraram até seis horas a expulsar o inserto, predominaram os que não receberam um inserto hidratado, sendo que em 62,5% destes o inserto estava revestido por uma substância mucoadesiva. Entre os cães que expulsaram o inserto até às 6 horas, mas o mesmo se partiu, existiam dois casos de hidratação e um caso em que esta não foi realizada.

Por outro lado, entre os cães que demoraram até 24 horas a expulsar o inserto, a percentagem de cães nos quais se colocaram insertos hidratados foi idêntica à que recebeu insertos hidratados (50%), conforme consta na tabela 10. O único caso em que o tempo de expulsão foi superior a 6 horas mas inferior a 24 horas, mas o inserto se partiu, refere-se a um inserto hidratado. No cão que demorou até 72 horas a expulsar o inserto, este era hidratado, por isso não surge revestido por substância mucoadesiva.

**Tabela 10 - Relação entre o tempo até à expulsão e a hidratação e revestimento com mucoadesivo.**

Hidratado			Tempo até expulsão (h)											
			<1		<6		<6 (partiu)		<24		<24 (partiu)		<72	
			N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
não	Mucoadesivo	não	1	50,0%	3	37,5%	0	0,0%	2	66,7%	0	0,0%	1	100,0%
		sim	1	50,0%	5	62,5%	2	100,0%	1	33,3%	0	0,0%	0	0,0%
sim	Mucoadesivo	não	1	100,0%	5	100,0%	1	100,0%	3	100,0%	1	100,0%	0	0,0%

#### 4.7.3. Local de colocação do inserto

Todos os animais que demoraram menos de uma hora a expulsar o inserto pertenciam ao grupo dos animais em que o inserto tinha sido colocado no fundo de saco conjuntival inferior, mais simplificada na pálpebra inferior. Por outro lado, entre os cães que demoraram até 24 horas a expulsar o inserto, 83,3% também receberam o inserto na pálpebra inferior, conforme consta na tabela 11.

Entre os cães que expulsaram o inserto até às 6 horas, mas o mesmo se partiu, predominaram os casos em que a colocação ocorreu no saco conjuntival inferior, tal como nos casos anteriores. No cão que demorou mais de 48 horas, mas menos de 72 horas a expulsar o inserto, o mesmo foi colocado no saco conjuntival da pálpebra superior (Figura 11).

O único caso em que o tempo de expulsão foi superior a 6 horas, mas inferior a 24 horas, mas o mesmo se partiu, é referente a uma colocação na pálpebra inferior. Relativamente aos cães que demoraram até seis horas a expulsar o inserto, em cerca de 76,9% o inserto foi colocado na pálpebra inferior e nos restantes 23,1% na pálpebra superior.

**Tabela 11 - Relação entre o tempo até à expulsão e o local de colocação do inserto.**

Palpebra	Tempo até expulsão (h)											
	<1		<6		<6 (partiu)		<24		<24 (partiu)		<72	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
inferior	3	100,0%	10	76,9%	2	66,7%	5	83,3%	1	100,0%	0	0,0%
superior	0	0,0%	3	23,1%	1	33,3%	1	16,7%	0	0,0%	1	100,0%



**Figura 11 - Visualização de aumento de volume por debaixo da pálpebra inferior correspondendo á localização do inserto.**

#### 4.7.4. Relação entre o porte dos animais e o tempo de permanência do inserto

Os cães que demoraram menos de uma hora a expulsar o inserto eram todos de pequeno porte (Figura 12).

Relativamente aos cães que demoraram até seis horas a expulsar o inserto, cerca de 46,2% era de médio porte e 38,5% era de grande porte. Entre os cães que expulsaram o inserto antes das 6 horas, mas o mesmo se partiu, predominavam os cães grandes.

Por outro lado, entre os cães que demoraram até 24 horas a expulsar o inserto, 50% eram cães grandes e 33,3% eram de porte médios, conforme consta na tabela 12. O único caso em que o tempo de expulsão foi antes das 24 horas, mas o inserto se partiu, refere-se a um cão de porte pequeno.

O cão que expulsou o inserto antes das 72 horas era de pequeno porte.

**Tabela 12 - Relação entre o tempo até à expulsão e o grupo de cães.**

Grupo de Cães	Tempo até expulsão (h)											
	<1		<6		<6 (partiu)		<24		<24 (partiu)		<72	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
grandes	0	0,0%	5	38,5%	2	66,7%	3	50,0%	0	0,0%	0	0,0%
médios	0	0,0%	6	46,2%	0	0,0%	1	16,7%	0	0,0%	0	0,0%
pequenos	3	100,0%	2	15,4%	1	33,3%	2	33,3%	1	100,0%	1	100,0%



**Figura 12 - Localização de inserto no fundo de saco conjuntival inferior num cão de porte pequeno.**



#### 4.8. Análise de correlação

No que se refere à análise de correlação, existe correlação entre duas variáveis sempre que existe uma relação entre elas, ou seja, sempre que uma variável possa ser enunciada em função de outra. A relação é tanto maior, quanto menor a significância.

A hidratação do inserto, para um nível de significância de 5%, relaciona-se de forma significativa com o revestimento do mesmo por um mucoadesivo. Esta relação surge negativa e forte, dado que a presença deste mucoadesivo apenas se verifica nos casos em que não existe hidratação. A relação da hidratação do inserto com as restantes variáveis, não se apresenta estatisticamente significativa (Tabela 13).

**Tabela 13 - Correlação entre variáveis em estudo.**

Correlações		Grupo de Cães	Formato	Hidratado	Mucoadesivo	Palpebra	Tempo até expulsão (h)
Grupo de Cães	Coefficiente de Correlação	1,000	-0,253	-0,175	0,000	0,000	-0,233
	Sig. (bilateral)		0,203	0,382	1,000	1,000	0,242
Formato	Coefficiente de Correlação	-0,253	1,000	-0,011	-0,242	-0,162	0,196
	Sig. (bilateral)	0,203		0,958	0,224	0,419	0,327
Hidratado	Coefficiente de Correlação	-0,175	-0,011	1,000	-,586**	-0,262	-0,129
	Sig. (bilateral)	0,382	0,958		0,001	0,187	0,520
Mucoadesivo	Coefficiente de Correlação	0,000	-0,242	-,586**	1,000	0,378	0,189
	Sig. (bilateral)	1,000	0,224	0,001		0,052	0,346
Palpebra	Coefficiente de Correlação	0,000	-0,162	-0,262	0,378	1,000	0,312
	Sig. (bilateral)	1,000	0,419	0,187	0,052		0,114
Tempo até expulsão (h)	Coefficiente de Correlação	-0,233	0,196	-0,129	0,189	0,312	1,000
	Sig. (bilateral)	0,242	0,327	0,520	0,346	0,114	

A biofuncionalidade do inserto, avaliada através do tempo de expulsão do inserto, não apresenta qualquer relação estatisticamente significativa com as restantes variáveis em estudo.

No que se refere à tolerância, analisada através da presença de sinais clínicos de lesão ocular, não foram verificadas quaisquer alterações em nenhum dos casos, o que inviabiliza a análise de eventuais correlações.

#### 4.9. Regressão

##### 4.9.1. Teste de Hipóteses

No que diz respeito à biofuncionalidade deve ter-se em consideração a existência de diversas categorias, sendo que se pretende obter conclusões acerca das possíveis diferenças entre os mesmos. Para tal facto, torna-se necessário obter conclusões acerca da normalidade dos dados.

A tabela 14 apresenta a normalidade dos dados relativos à biofuncionalidade.

O teste *Shapiro-Wilk* é o escolhido, uma vez que a amostra é pequena ( $n < 30$ ). De acordo com os resultados obtidos, existe evidência estatística para afirmar que os dados não são normais, uma vez que o valor de  $p$  é inferior ao nível de significância de 0,05.

**Tabela 14 - Testes de normalidade.**

<b>Testes de Normalidade</b>						
Tempo até expulsão (h)	<b>Kolmogorov-Smirnov<sup>a</sup></b>			<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>Estatística</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>	<b>Estatística</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
	0,308	27	0,000	0,871	27	0,003
a. Correlação de Significância de Lilliefors						

**Legenda: Sig.** –  $p$ -value que confirma anormalidade dos dados;

Para a realização da comparação entre os dados, não podem ser utilizados testes de natureza paramétrica, uma vez que isto exige que os mesmos se ajustem à distribuição normal. Assim, deve recorrer-se a testes não paramétricos.

#### **4.9.1.1. Grupos de cães**

De acordo com os testes realizados constantes na tabela 15, a significância de 0,717 é superior à estabelecida de 0,05. Consequentemente, não existem diferenças significativas entre os diferentes grupos de cães considerados, no que se refere à biofuncionalidade do inserto, na medida em que não existe evidência estatística para rejeitar a hipótese nula do seguinte teste:

H0: Não existem diferenças entre os grupos de cães

H1: Existem diferenças entre os grupos de cães

#### **4.9.1.2. Formato**

Por outro lado, para se testar a possível existência de diferenças na biofuncionalidade entre os diferentes formatos de insertos realizou-se o seguinte teste:

H0: Não existem diferenças entre formatos de inserto

H1: Existem diferenças entre formatos de inserto

Neste caso, existe evidência estatística que permite rejeitar a hipótese nula do teste considerado, uma vez que a significância é 0,008, ou seja, inferior à estabelecida. Assim, pode afirmar-se que existem diferenças na biofuncionalidade do inserto tendo em conta os diferentes formatos de inserto aplicado.

#### **4.9.1.3. Hidratação**

Para se testar a possível existência de diferenças na biofuncionalidade entre os insertos hidratados e os não hidratados, realizou-se o seguinte teste:

H0: Não existem diferenças entre insertos hidratados e não hidratados

H1: Existem diferenças entre insertos hidratados e não hidratados

Não existem diferenças significativas entre os insertos hidratados e não hidratados, no que se refere à biofuncionalidade do inserto, na medida em que não existe evidência estatística para rejeitar a hipótese nula do teste acima definido.

#### **4.9.1.4. Revestimento com mucoadesivo**

Para se testar a possível existência de diferenças na biofuncionalidade entre os insertos revestidos por muco e os não revestidos, realizou-se o seguinte teste:

H0: Não existem diferenças entre insertos revestidos por muco e não revestidos

H1: Existem diferenças entre insertos revestidos por muco e não revestidos

Não existem diferenças significativas entre os insertos com este muco e os que não apresentam, no que se refere à biofuncionalidade do inserto, na medida em que não existe evidência estatística para rejeitar a hipótese nula do teste acima definido.

#### **4.9.1.5. Local de colocação inicial do inserto**

Para se testar a possível existência de diferenças na biofuncionalidade entre os insertos colocados na pálpebra superior e os colocados na pálpebra inferior, realizou-se o seguinte teste:

H0: Não existem diferenças entre insertos do saco conjuntival da pálpebra superior e da inferior



H1: Existem diferenças entre insertos do saco conjuntival da pálpebra superior e da inferior

Neste caso, existe evidência estatística que permite rejeitar a hipótese nula do teste considerado. Assim, pode afirmar-se que existem diferenças na biofuncionalidade do inserto que é colocado na pálpebra superior relativamente ao que se coloca na pálpebra inferior.

Na tabela 15 estão representados os resultados dos testes não paramétricos realizados com as respetivas significâncias para cada hipótese testada nos pontos anteriores.

**Tabela 15 - Testes não paramétricos: Biofuncionalidade.**

**Resumo de Teste de Hipótese**

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	As categorias de Grupo de Cães ocorrem com probabilidades iguais.	Teste Qui-Quadrado de Uma Amostra	717,000	Reter a hipótese nula.
2	As categorias de Formato ocorrem com probabilidades iguais.	Teste Qui-Quadrado de Uma Amostra	8,000	Rejeitar a hipótese nula.
3	As categorias definidas por Hidratado = não e sim ocorrem com probabilidades 0,5 e 0,5.	Teste Binomial de Uma Amostra	441,000	Reter a hipótese nula.
4	As categorias definidas por Mucoadesivo = não e sim ocorrem com probabilidades 0,5 e 0,5.	Teste Binomial de Uma Amostra	124,000	Reter a hipótese nula.
5	As categorias definidas por Palpebra = inferior e superior ocorrem com probabilidades 0,5 e 0,5.	Teste Binomial de Uma Amostra	7,000	Rejeitar a hipótese nula.

## 5. Discussão

A via tópica é a forma de administração de medicamentos mais utilizada em oftalmologia veterinária e humana, especialmente no tratamento de doenças do segmento anterior do olho. Apesar de ser não invasiva e de fácil aplicação, a via de administração tópica tem como principal desvantagem a baixa biodisponibilidade, devido à rápida eliminação e à existência de inúmeras barreiras anatómicas que complicam a penetração dos fármacos no olho (Gaudana et al. 2010). Desta forma, após a administração de colírios, para além da drenagem nasolacrimal, do lacrimejamento e da absorção sistémica, os fármacos têm de ultrapassar as barreiras oculares para chegar ao local alvo (Sebbag et al. 2020). Consequentemente, os colírios têm de ser aplicados várias vezes ao longo do dia. Por isso,

torna-se importante o estudo de novas opções de administração de fármacos que possibilitem uma biodisponibilidade mais prolongada. Os DDFs foram desenvolvidos de forma a contrariar este problema, podendo dividir-se em implantes e insertos (Joseph and Venkatraman 2017). Os insertos são dispositivos de distribuição de fármacos que podem ser colocados no saco conjuntival sem recurso a cirurgia, sendo utilizados para possibilitar a distribuição constante do fármaco a nível ocular sem haver necessidade de uma elevada frequência de administrações, uma vez que o tempo de contacto do medicamento com o olho é superior (Mirzaeei et al. 2018).

Com o propósito de desenvolver novas formas de administração tópica que possibilitasse uma distribuição continua dos fármacos a nível ocular, uma equipa de investigadores da Universidade de Coimbra desenvolveu o ineye®, que demonstrou elevada biocompatibilidade *in vitro*, em cultura de células de epitélio da córnea (Mariz 2018).

Não existiam até ao momento quaisquer estudos *in vivo*.

A espécie canina foi a escolhida para este primeiro estudo *in vivo* devido à maior facilidade do seu exame diário por parte do investigador e também devido ao interesse no potencial uso destes insertos em termos clínicos nesta espécie animal. Para além disto, pelo seu comportamento em geral dócil, a colocação do inserto parece ser mais fácil em cães. Adicionalmente foram realizados testes preliminares em dois gatos e num equino

O primeiro objetivo do estudo era verificar se os ineye® testados eram biofuncionais nesta espécie. Este parâmetro foi avaliado através do número de horas durante as quais o inserto permaneceu no fundo de saco conjuntival. Neste ensaio nenhum inserto permaneceu no local durante os 7 dias previstos no protocolo experimental, sendo que o máximo tempo de permanência foi superior a 48 horas e inferior a 72 horas. Esta situação ocorreu apenas uma vez, representando 3,7% do total, no grupo dos cães pequenos, formato esférico, não hidratado e não revestido, colocado na pálpebra superior. Na grande maioria dos casos o inserto foi expulso em menos de 6 horas sem se ter partido, representando 48,1% do total, sendo que dentro destes a maioria dos animais pertenciam ao grupo dos cães médios em que o inserto era esférico, colocado na pálpebra inferior, não era hidratado e estava revestido por mucoadesivo.

Para tentar melhorar a biofuncionalidade do ineye® e aumentar o seu tempo de permanência nesta espécie, alguns insertos foram revestidos com ácido hialurónico, um polímero com propriedades mucoadesivas. Porém, o tempo de permanência do inserto no saco conjuntival foi igualmente baixo.

As restantes variáveis em estudo relacionadas com o inserto, como o seu formato e a hidratação prévia com soro fisiológico estéril não tiveram influência sobre o seu tempo de permanência. Consequentemente, nas nossas condições experimentais, o ineye® não se

revelou biofuncional na espécie canina. Todavia, deve ser tida em consideração a pequena dimensão da amostra em estudo.

Torna-se importante tentar encontrar algumas razões que possam ajudar a explicar estes resultados relativos à biofuncionalidade do inserto,

Os cães utilizados tinham todos uma conformação craniana mesocefálica. A razão para esta escolha residia no facto de os cães braquicefálicos terem uma maior exposição do bulbo ocular e uma menor sensibilidade ao nível da córnea (Kafarnik et al. 2008). Consequentemente, no nosso entender, haveria maior dificuldade de colocação do inserto e a resposta comportamental à presença do inserto poderia estar comprometida. Para além disto, a fenda palpebral nos cães braquicefálicos é maior, havendo maior exposição do bulbo ocular, podendo facilitar a expulsão do ineye®. Por outro lado, a própria anatomia dos cães pode não ser adequada à presença do inserto, ou seja, a existência da terceira pálpebra que facilita a expulsão de corpos estranhos devido à sua orientação pode também favorecer a expulsão do inserto (Konig and Lilebich 2016). Para além disto, também o tamanho do saco conjuntival pode não ser suficiente para garantir a permanência do inserto.

Houve também uma tentativa de melhoria da biofuncionalidade através do revestimento do inserto com um mucoadesivo, mas os resultados não foram muito animadores. É importante investigar outros mucoadesivos que possam contribuir para a permanência do inserto a nível do saco conjuntival. No caso de um DDF anteriormente referido denominado BODI®, foi usado o Carbopol®. Este mucoadesivo sintético possibilitou a permanência do inserto em questão, durante 7 dias, no saco conjuntival de vários cães, de diversas raças (Baeyens et al. 2002). Desta forma, este polímero poderá ser testado futuramente como revestimento possível para o ineye®. Para além disto, o ácido hialurónico estava apenas a revestir o inserto. Consequentemente, ao entrar em contacto com a córnea, o mucoadesivo possivelmente desprendia-se do ineye®, razão pela qual nestes animais era possível verificar a presença de um muco esbranquiçado no canto medial do olho, poucos minutos após a colocação do inserto.

Noutras condições experimentais, em que o número de casos fosse igual para cada uma das variáveis em estudo, ou seja, o número de cães de cada grupo fosse igual entre si e o número de insertos colocados na pálpebra superior fosse igual ao número colocado na pálpebra inferior, seria possível concluir qual o formato com maior e com menor tempo de permanência. Porém, neste estudo, devido ao tamanho da amostra em estudo e ao tempo disponível para a realização do ensaio no contexto de uma tese de mestrado integrado, o tamanho dos grupos em estudo foi diferente. A pequena dimensão da amostra impossibilitou a obtenção de resultados estatisticamente significativos, tanto a nível dos testes de correlação, que demonstraram não existir nenhuma relação entre o tempo de permanência e

as variáveis, como os testes de hipóteses que permitiriam perceber se existiam ou não diferenças entre cada uma das variáveis.

O segundo objetivo do estudo era avaliar a tolerância à presença do ineye® nos cães em estudo, ou seja, se causava algum tipo de lesões no olho do animal. Como foi visível nos resultados, não se observaram quaisquer lesões associadas à presença do inserto nos animais em estudo e, conseqüentemente, a tolerância observada nestas condições experimentais foi elevada. Porém, o ensaio não teve a duração pretendida de 7 dias, por isso não se consegue garantir que a médio/longo prazo, a presença do inserto não pudesse causar algum sintoma a nível ocular. Contudo, a nível comportamental, os cães incluídos no estudo não demonstraram qualquer desconforto, nem aquando da colocação nem nas horas que se seguiram a esta.

A somar a estas condicionantes está a escassez de informação relativa ao comportamento deste dispositivo *in vivo* por inexistência de estudos prévios.

## **6. Conclusão**

Este estudo propôs-se a avaliar a biocompatibilidade do inserto ocular ineye® *in vivo* nas suas duas vertentes: biofuncionalidade e tolerância. Nas condições experimentais definidas a biofuncionalidade do ineye® foi baixa, concluindo-se que este não permanecia no saco conjuntival dos cães incluídos no estudo durante os 7 dias. Na tentativa de melhorar a biofuncionalidade, procedeu-se ao revestimento do inserto por um mucoadesivo (ácido hialurónico). Porém, não foram registadas melhorias. Durante este ensaio a tolerância á presença do ineye® foi elevada, visto que durante o seu tempo de permanência no saco conjuntival, não causou qualquer alteração nem desconforto ocular aos animais.

Para além destes dois principais objetivos propostos, tentou-se também perceber qual a combinação ideal de variáveis do inserto para atingir o maior tempo de permanência possível. Este objetivo não foi alcançado, uma vez que a amostra era pequena e dentro de cada grupo de variáveis, os números de animais testados não foram iguais, não sendo possível chegar a uma conclusão relativa a esta questão. A principal limitação deste estudo prende-se com o tamanho da amostra, pela dificuldade de angariação de casos. Uma vez que os resultados deste estudo demonstraram elevada tolerância dos cães à presença do inserto, futuramente poderá ser mais fácil a angariação de casos.

Como perspetivas futuras propõe-se a realização de mais estudos, no sentido de avaliar melhor a biofuncionalidade do inserto. Para tal, poderão ser utilizados coelhos, reduzindo assim a variabilidade entre animais. Outro aspeto que pode ser posteriormente estudado é a mudança do polímero mucoadesivo usado no revestimento do ineye®, devido

ao baixo sucesso do ácido hialurônico. Alternativamente o mucoadesivo pode ser incorporado na constituição do inserto, impossibilitando a sua dissolução quase imediata, algo que aconteceu quando o ácido hialurônico foi apenas usado como revestimento.

Ainda assim, apesar das limitações acima referidas, os resultados obtidos são muito úteis por ser o primeiro estudo *in vivo* realizado com o ineye®. É muito importante continuar a estudar este inserto ocular, uma vez que a autorização para a sua utilização, quer no Homem, quer em animais, iria facilitar bastante a administração tópica ocular de fármacos de forma continuada. No caso de doenças oculares em animais, seria muito útil em doenças crónicas como glaucoma, *pannus* ou queratoconjuntivite seca, ou em pós-operatórios de cirurgias intraoculares que exigem uma frequência de administração de colírios muito elevada, o que geralmente dificulta a compliance dos tutores.

## 7. Referências Bibliográficas

Adams ML, Lavasanifar A, Kwon GS. 2003. Amphiphilic block copolymers for drug delivery. *J Pharm Sci.* 92(7):1343–1355. doi: 10.1002/jps.10397/

Arifin DY, Lee LY, Wang CH. 2006. Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 58(12–13):1274–1325. doi:10.1016/j.addr.2006.09.007.

Arita R, Fukuoka S, Morishige N. 2017. Functional morphology of the lipid layer of the tear film. *Cornea.* 36(11):60–66. doi:10.1097/ICO.0000000000001367.

Arruda Mello Filho PA, Maia M, Rodrigues EB, Farah ME. 2010. Farmacologia ocular aplicada no tratamento de doenças do vítreo, retina e coróide. *Arq Bras Oftalmol.* 73(3):294–299. doi:10.1590/S0004-27492010000300018.

Baeyens V, Felt-Baeyens O, Rougier S, Pheulpin S, Boisramé B, Gurny R. 2002. Clinical evaluation of bioadhesive ophthalmic drug inserts (BODI®) for the treatment of external ocular infections in dogs. *J Control Release.* 85(1–3):163–168. doi:10.1016/S0168-3659(02)00284-5.

Barachetti L, Rampazzo A, Mortellaro CM, Scevola S, Gilger BC. 2015. Use of episcleral cyclosporine implants in dogs with keratoconjunctivitis sicca: Pilot study. *Vet Ophthalmol.* 18(3):234–241. doi:10.1111/vop.12173.

Barar J, Javadzadeh AR, Omid Y. 2008. Ocular novel drug delivery: Impacts of membranes and barriers. *Expert Opin Drug Deliv.* 5(5):567–581. doi:10.1517/17425247.5.5.567.

Barbault-Foucher S, Gref R, Russo P, Guehot J, Bochot A. 2002. Design of poly-ε-caprolactone nanospheres coated with bioadhesive hyaluronic acid for ocular delivery. *J Control Release.* 83(3):365–375. doi:10.1016/S0168-3659(02)00207-9.

Bartlett JD, Jaanus SD. 2008. *Clinical Ocular Pharmacology.* 5th ed. USA.

Bielory L. 2000. Allergic and immunologic disorders of the eye. Part I: Immunology of the eye. *J Allergy Clin Immunol.* 106(5):805–816. doi:10.1067/mai.2000.111029.

Chow SC. 2014. Bioavailability and bioequivalence in drug development. *Wiley Interdiscip Rev Comput Stat.* 6(4):304–312. doi:10.1002/wics.1310.

Christie M, Forsyth S. 2008. *Small Animal Clinical Pharmacology*. 2nd ed. China: Saunders Elsevier.

Coroi MC ristin., Bungau S, Tit M. 2015. Preservatives From the Eye Drops and the Ocular Surface. *Rom J Ophthalmol.* 59(1):2–5.

Figueiras A, Carvalho R, Veiga F. 2007. Mucoadhesive drug delivery systems in the oral cavity: Mucoadhesive mechanism and mucoadhesive polymers. *Rev Lusófona Ciências e Tecnol da Saúde.* 4:216–233.

Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. 2010. Ocular drug delivery. *AAPS J.* 12(3):348–360. doi:10.1208/s12248-010-9183-3.

Gause S, Hsu KH, Shafor C, Dixon P, Powell KC, Chauhan A. 2015. Mechanistic modeling of ophthalmic drug delivery to the anterior chamber by eye drops and contact lenses. *Adv Colloid Interface Sci.* 233:139–154. doi:10.1016/j.cis.2015.08.002. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2015.08.002>.

Gelatt KN. 2014. *Essentials Of Veterinary Ophthalmology*. 3rd ed. USA : Florida: Wiley Blackwell.

Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ. 2013. *Veterinary Ophthalmology*. 5th ed. usa: wiley-blackwell.

Gilger BC, Wilkie DA, Clode AB, McMullen RJ, Utter ME, Komaromy AM, Brooks DE, Salmon JH. 2010. Long-term outcome after implantation of a suprachoroidal cyclosporine drug delivery device in horses with recurrent uveitis. *Vet Ophthalmol.* 13(5):294–300. doi:10.1111/j.1463-5224.2010.00807.x.

Greve C, Jorgensen L. 2017. Therapeutic Delivery. *Ther Deliv.* 7(2):117–138. doi:10.4155/tde.15.92.

Hermans H, Ensink JM. 2013. Complication after implantation of a suprachoroidal Cyclosporine device in a horse a wandering implant. *Pferdeheilkunde.* 29(6):712–715. doi:10.21836/PEM20130604.

Hornof M, Toropainen E, Urtti A. 2005. Cell culture models of the ocular barriers. *Eur J Pharm Biopharm.* 60(2):207–225. doi:10.1016/j.ejpb.2005.01.009.

Huang D, Chen YS, Rupenthal ID. 2017. Overcoming ocular drug delivery barriers through the use of physical forces. *Adv Drug Deliv Rev.* 126:96–112. doi:10.1016/j.addr.2017.09.008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.008>.

INFARMED. 2005. Preparações oftálmicas. In: *Farmacopeia Portuguesa*. VIII. p. 693–696.

Jervis LP. 2016. A Summary of Recent Advances in Ocular Inserts and Implants. *J Bioequiv Availab.* 09(01):320–323. doi:10.4172/jbb.1000318.

Joseph RR, Venkatraman SS. 2017. Drug delivery to the eye: What benefits do nanocarriers offer? *Nanomedicine*. 12(6):683–702. doi:10.2217/nnm-2016-0379.

Jumelle C, Gholizadeh S, Annabi N, Dana R. 2020. Advances and limitations of drug delivery systems formulated as eye drops. *J Control Release*. 321:1–22. doi:10.1016/j.jconrel.2020.01.057. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.057>.

Kafarnik C, Fritsche J, Reese S. 2008. Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: Assessment using in vivo confocal microscopy. *Vet Ophthalmol*. 11(6):363–367. doi:10.1111/j.1463-5224.2008.00659.x.

Kaur IP, Singh M, Kanwar M. 2000. Formulation and evaluation of ophthalmic preparations of acetazolamide. *Int J Pharm*. 199(2):119–127. doi:10.1016/S0378-5173(00)00359-8.

Konig HE, Lilebich H-G. 2016. *Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e atlas colorido*.

Kugelberg M, Shafiei K, Van Der Ploeg I, Zetterström C. 2010. Intraocular lens as a drug delivery system for dexamethasone. *Acta Ophthalmol*. 88(2):241–244. doi:10.1111/j.1755-3768.2008.01419.x.

Kumari A, Sharma PK, Garg VK, Garg G. 2010. Ocular inserts-Advancement in therapy of eye diseases. *J Adv Pharm Technol Res*. 1(3):291–296. doi:10.4103/0110-5558.72419.

Lin S, Ge C, Wang D, Xie Q, Wu B, Wang J, Nan K, Zheng Q, Chen W. 2019. Overcoming the anatomical and physiological barriers in topical eye surface medication using peptide-decorated-polymeric micelle. *ACS Appl Mater Interfaces*. doi:10.1021/acsami.9b13851.

Lopes MFVS. 2017. Biocompatibilidade de dispositivos médicos. <http://repositorio.ul.pt/handle/10451/36067>.

Maggs DJ, Miller PE, Ofri R. 2012. *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 5th ed.

Mariz M. 2018. *Ocular Drug Delivery Insert Technology from polymer synthesis to in vitro testing*. Coimbra: Universidade de Coimbra

Marsden J. 1998. The use of eye drops and ointments in A&E. *Emerg Nurse*. 6(8):17–22. doi:10.7748/en1998.12.6.8.17.c1250.

Mendes-Jorge L, Ramossipi-Sup D, Luppo M, Llombart C, Alexandre-Pires G, Nacher V, Melgarejo V, Correia M, Carretero A, Tafurospi-Sup S, et al. 2009. Scavenger function of resident autofluorescent perivascular macrophages and their contribution to the maintenance of the blood-retinal barrier. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 50(12):5997–6005. doi:10.1167/iovs.09-3515.

Mirzaeei S, Berenjian K, Khazaei R. 2018. Preparation of the potential ocular inserts by electrospinning method to achieve the prolong release profile of triamcinolone acetonide. *Adv Pharm Bull*. 8(1):21–27. doi:10.15171/apb.2018.003. <https://doi.org/10.15171/apb.2018.003>.

Parikh P. 2017. *Optimized Ophthalmic: Advances in the Treatment of Ocular Diseases*

in Animals. Biomed J Sci Tech Res. 1(6):1617–1620. doi:10.26717/bjstr.2017.01.000500.

Pathak Y, Sutariya V, Hirani AA. 2016. Nano- Biomaterials For Ophthalmic Drug Delivery. USA : Florida: Springer.

Peng CC, Ben-Shlomo A, MacKay EO, Plummer CE, Chauhan A. 2012. Drug delivery by contact lens in spontaneously glaucomatous dogs. Curr Eye Res. 37(3):204–211. doi:10.3109/02713683.2011.630154.

Pijls RT. 2007. The OphthaCoil: A New Vehicle for the Delivery of Drugs to the Eye

Plazonnet B. 2003. Ophthalmic Drug Delivery. In: Modified-Release Drug Delivery Technology. p. 289–313.

Ploog CL, Swinger RL, Spade J, Quandt KM, Mitchell MA. 2014. Use of lidocaine-bupivacaine-infused absorbable gelatin hemostatic sponges versus lidocaine-bupivacaine retrobulbar injections for postoperative analgesia following eye enucleation in dogs. J Am Vet Med Assoc. 244(1):57–62. doi:10.2460/javma.244.1.57.

Sapino S, Chirio D, Peira E, Abellán Rubio E, Brunella V, Jadhav SA, Chindamo G, Gallarate M. 2019. Ocular Drug Delivery: A Special Focus on the Thermosensitive Approach. Nanomaterials. 9(6):884. doi:10.3390/nano9060884.

Sebbag L, Moody LM, Mochel JP. 2020. Albumin levels in tear film modulate the bioavailability of medically-relevant topical drugs. Front Pharmacol. 10(January):1–9. doi:10.3389/fphar.2019.01560.

Shilo-Benjamini Y, Slav SA, Kahane N, Kushnir Y, Sarfaty H, Ofri R. 2019. Analgesic effects of intraorbital insertion of an absorbable gelatin hemostatic sponge soaked with 1% ropivacaine solution following enucleation in dogs. J Am Vet Med Assoc. 255(11):1255–1262.

Singh A, Negi D, Mishra N, Baldi A. 2018. Recent trends in ocular drug delivery. Pharmaspire. 10(2):55–63.

Urtti A. 2006. Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. Adv Drug Deliv Rev. 58(11):1131–1135. doi:10.1016/j.addr.2006.07.027.

Vasir JK, Tambwekar K, Garg S. 2003. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. Int J Pharm. 255(1–2):13–32. doi:10.1016/S0378-5173(03)00087-5.

Walt J, Alexander F. 2016. Drops, Drops, and More Drops. In: Glaucoma Current Clinical and Research Aspects. USA: California.

Wang ZR, Cui Y, Qiu ZY. 2019. Biomimetic mineralized collagen biocompatibility. In: Mineralized Collagen Bone Graft Substitutes. Elsevier Ltd. p. 61–98. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102717-2.00003-5>.

Willerth S. 2017. Synthetic biomaterials for neural tissue engineering. In: Academic Press. Engineering Neural Tissue from Stem Cells, 1<sup>st</sup> ed; United Kingdom: London; p. 127–158.

Xu L, Yang J, Xue B, Zhang C, Shi L, Wu C, Su Y, Jin X, Liu Y, Zhu X. 2017. Molecular insights for the biological interactions between polyethylene glycol and cells. Biomaterials.



147:1–13. doi:10.1016/j.biomaterials.2017.09.002.

Yavuz B, Kompella UB. 2016. Ocular Drug Delivery. University of Colorado

## 8. Anexos

### Anexo 1 - Declaração de consentimento informado



#### DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Eu, \_\_\_\_\_, detentor do número de bilhete de identidade \_\_\_\_\_, proprietário do animal \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ anos de idade, declaro para os devidos efeitos que tomei conhecimento das condições de participação no estudo supracitado e que concordo que o meu animal participe no mesmo.

Comprometo-me a comparecer com o meu animal para a reavaliação diária, nos dias acordados.

O inserto, designado de INEYE®, é composto por um material de reconhecida compatibilidade com os mais variados órgãos e tecidos, comprovada por diferentes centros de investigação ao longo de várias décadas. Não são conhecidos efeitos tóxicos crónicos e os efeitos adversos agudos apenas acontecem após ingestão, inalação ou contacto com grandes quantidades do material. Para além dos dados bibliográficos, foram feitos testes de biocompatibilidade in vitro especificamente com o material preparado para o fabrico dos insertos em estudo, colocando pequenas amostras do material em contacto com células endoteliais da córnea, com resultados que confirmam a excelente biocompatibilidade.

O inserto, de forma \_\_\_\_\_, terá um peso de aproximadamente 40 mg e um diâmetro de 4 mm. Antes da sua aplicação, o INEYE® será esterilizado. O inserto será aplicado no saco conjuntival (por detrás da pálpebra) do seu cão imediatamente após a aplicação de um anestésico local aplicado através de uma gota ocular. O objetivo da utilização do anestésico é facilitar a colocação do inserto e evitar qualquer tentativa de remoção imediata do inserto pelo animal. O efeito anestésico será de cerca de meia hora. O inserto permanecerá no olho do seu cão até ao máximo de uma semana. Serão feitas avaliações periódicas ao longo dessa semana e o estudo interrompido se for detetado qualquer alteração fisiológica ou comportamental que possa pôr em risco a saúde do animal. Na eventualidade de ocorrer um problema de saúde associado à colocação, presença ou remoção do INEYE®, a empresa INEYE PHARMA, Lda, compromete-se a pagar todos os gastos associados ao tratamento dessa situação e a suportar qualquer indemnização, caso se justifique.

Lisboa, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

O TUTOR

\_\_\_\_\_

## Anexo 2 - Protocolo



### RESULTADOS DA COLOCAÇÃO DO INEYE®

Resultado nº \_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome: _____	Espécie: _____	Raça: _____
Idade: _____	Sexo: F FC M MC	Peso: ____kg
Proprietário: _____	Contacto: _____	

#### DIA 1 – (Segunda feira) ANTES DA COLOCAÇÃO

(Administração de uma gota de Anestocil)

Data de colocação \_\_\_\_\_

Tamanho e Diâmetro \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Olho \_\_\_\_\_

Teste Schirmer inicial \_\_\_\_\_

Pressão Intraocular inicial \_\_\_\_\_

Biomicroscopia inicial normal? SIM ☐ NÃO ☐

Fundoscopia inicial normal? SIM ☐ NÃO ☐

Teste de Fluoresceína POSITIVO ☐ NEGATIVO ☐

Localização do inserto



OD



OE

#### *Score do sinal clínico*

- 0 – Sem alteração
- 1 – Ligeira
- 2 – Moderada
- 3 – Grave (interrupção do estudo)

#### Imediatamente após inserto

Comportamento \_\_\_\_\_

Expulsão? SIM ☐ NÃO ☐

#### AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS SINAIS CLÍNICOS DE CONJUNTIVITE

	<u>O.E</u>	<u>O.D</u>
Hiperémia conjuntival (0 a 3)		
Quemose (0 a 3)		
Epífora (0 a 3)		
Prurido (0 a 3)		
Corrimento ocular (0 a 3)		
Queratite concomitante (0-3)		
Score TOTAL		

Teste Schirmer: \_\_\_\_\_  
Pressão Intraocular: \_\_\_\_\_

**DIA 1 – (Segunda feira) APÓS A COLOCAÇÃO**  
**6 Horas depois**

Expulsão? SIM ☐ NÃO ☐

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS SINAIS CLÍNICOS DE CONJUNTIVITE**

	<u>O.E</u>	<u>O.D</u>
<i>Hiperémia conjuntival (0 a 3)</i>		
<i>Quemose (0 a 3)</i>		
<i>Epífora (0 a 3)</i>		
<i>Prurido (0 a 3)</i>		
<i>Corrimento ocular (0 a 3)</i>		
<i>Queratite concomitante (0-3)</i>		
<b>Score TOTAL</b>		

Teste Schirmer: \_\_\_\_\_  
Pressão Intraocular: \_\_\_\_\_  
Teste de Fluoresceína POSITIVO ☐ NEGATIVO ☐  
Lesões da Conjuntiva, Esclera ou Córnea \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Outros: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**DIA 2**

Data: \_\_\_\_\_  
Expulsão? SIM ☐ NÃO ☐

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS SINAIS CLÍNICOS DE CONJUNTIVITE**

	<u>O.E</u>	<u>O.D</u>
<i>Hiperémia conjuntival (0 a 3)</i>		
<i>Quemose (0 a 3)</i>		
<i>Epífora (0 a 3)</i>		
<i>Prurido (0 a 3)</i>		
<i>Corrimento ocular (0 a 3)</i>		
<i>Queratite concomitante (0-3)</i>		
<b>Score TOTAL</b>		

Teste de Schirmer: \_\_\_\_\_  
Pressão Intraocular: \_\_\_\_\_  
Teste de Fluoresceína POSITIVO ☐ NEGATIVO ☐

**Biocompatibility and tolerance of the ineye® insert in companion animals**

C. Marques<sup>1</sup>, T Cernadas<sup>2,3</sup>, P Ferreira<sup>2,3</sup>, B S Braz<sup>1</sup>, M Mariz<sup>2,3</sup>, E Delgado<sup>1</sup>

1 - CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon

2- CIEPQPF - Chemical Process Engineering and Forest Products Research Centre, University of Coimbra, Rua Sílvio Lima, P-3030 790 Coimbra, Portugal

3-INEYE PHARMA, Lda, IPN-Incubator, Rua Pedro Nunes, 3030-199 Coimbra, Portugal

**Background:** Ocular administration of drugs generally requires application of topical medications several times a day, which is impractical, so new forms of drugs' topical administration which enable sustained release are necessary. For this purpose, an ocular insert designated by ineye® composed of polyethylene glycol-polycaprolactone copolymer, a material of recognized biocompatibility, was developed to administer drugs in a sustained profile.

**Purpose:** To evaluate biocompatibility and tolerance of the ineye® insert at topical ocular level in dogs/cats.

**Materials & Methods:** Eleven mesocephalic dogs and two cats with normal ophthalmologic examinations were included, after owners written consent. Ocular inserts had a maximum weight of approximately 40 mg and a maximum dimension of 4 mm, being aspheric (7/13), hemiaspheric (3/13) or oblong (3/13) in shape and sterilized prior to their application. Inserts were placed in the lower (10) or upper (1) conjunctival sac and an ophthalmic exam was scheduled for 6h, 24h, and daily until 7 d post placement to recognize any signs of discomfort or inflammation, such as conjunctival hyperemia, congestion, chemosis, corneal lesions, ocular discharge or pruritus.

**Results:** In 2/13 cases inserts were expelled few minutes after their placement. In 8/13 before 6 h, in 2/13 they stayed over 6 h but were no longer present at 24 h and in one case, the upper conjunctival sac located, it stayed over two days and less than 3. No signs of irritation or discomfort were observed.

**Conclusions:** Differences between breeds are predictable. There were no ocular sequelae related to the ineye® presence in any of the cases. Further studies are necessary to adjust shape and size for companion animals use.

**Support:** Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) with the project PTDC/EMD-EMD/31462/2017; INEYE PHARMA, Lda for the financial support of the animal testing; and CIISA Project UID/CVT/276/2019